

Université de Montréal

*Études de la ténacité d'adsorption de la sérum-albumine sur des  
monocouches auto-assemblées hydrophobes*

Par  
**Samuel April**

Département de Chimie  
Faculté des Arts et des Sciences

Mémoire présenté à la Faculté des études supérieures en vue de  
l'obtention du grade de maîtrise en sciences (M. Sc.) en chimie

Décembre 2003

© Samuel April 2003



QD

3

U54

2004

V.017

## AVIS

L'auteur a autorisé l'Université de Montréal à reproduire et diffuser, en totalité ou en partie, par quelque moyen que ce soit et sur quelque support que ce soit, et exclusivement à des fins non lucratives d'enseignement et de recherche, des copies de ce mémoire ou de cette thèse.

L'auteur et les coauteurs le cas échéant conservent la propriété du droit d'auteur et des droits moraux qui protègent ce document. Ni la thèse ou le mémoire, ni des extraits substantiels de ce document, ne doivent être imprimés ou autrement reproduits sans l'autorisation de l'auteur.

Afin de se conformer à la Loi canadienne sur la protection des renseignements personnels, quelques formulaires secondaires, coordonnées ou signatures intégrées au texte ont pu être enlevés de ce document. Bien que cela ait pu affecter la pagination, il n'y a aucun contenu manquant.

## NOTICE

The author of this thesis or dissertation has granted a nonexclusive license allowing Université de Montréal to reproduce and publish the document, in part or in whole, and in any format, solely for noncommercial educational and research purposes.

The author and co-authors if applicable retain copyright ownership and moral rights in this document. Neither the whole thesis or dissertation, nor substantial extracts from it, may be printed or otherwise reproduced without the author's permission.

In compliance with the Canadian Privacy Act some supporting forms, contact information or signatures may have been removed from the document. While this may affect the document page count, it does not represent any loss of content from the document.

Université de Montréal  
Faculté des études supérieures

Ce mémoire intitulé

*Études de la ténacité d'adsorption de la sérum-albumine sur des  
monocouches auto-assemblées hydrophobes*

présenté par

**Samuel April**

a été évalué par un jury composé des personnes suivantes :

Pr. Suzanne Giasson  
**président-rapporteur**

Pr. Antonella Badia  
**directrice de recherche**

Pr. Julian Zhu  
**membre du jury**

## Résumé

Le premier processus qui s'établit à la surface d'un corps étranger (ex. implants, prothèses, etc.) placé dans un environnement biologique est l'adsorption séquentielle de protéines. Ce processus est connue sous le nom de la séquence de Vroman. Les petites protéines présentent en plus grand nombre s'adsorbent en premier pour ensuite laisser leur place à des protéines moins abondantes, mais ayant une affinité plus grande pour la surface. C'est la composition de protéines à cette interface qui détermine la réponse biologique du milieu envers le corps étranger.

Plusieurs méthodes ont été suggérées afin de contrôler l'adsorption de protéines en vue d'obtenir des surfaces biocompatibles. Certaines consistent à développer des surfaces limitant toute adsorption de protéines et d'autres, à favoriser une adsorption sélective de protéines. La méthode étudiée dans ce mémoire consiste à utiliser les monocouches auto-assemblées (« self-assembled monolayers ») mixtes d'alcanethiols à courtes et longues chaînes afin d'augmenter la ténacité d'adsorption de la sérum-albumine humaine (HSA), limitant ainsi la cascade de protéines qui mène à la formation de thrombose. Les monocouches auto-assemblées ont été préparées par déposition passive et électrochimique de *n*-docosanethiol ( $C_{22}SH$ ) et de *n*-dodécaneethiol ( $C_{12}SH$ ). Les monocouches auto-assemblées obtenues, ainsi que l'adsorption et la désorption de la HSA sur ces monocouches ont été analysées par microscopie à force atomique (AFM), spectroscopie de résonance des plasmons de surface (SPR), spectroscopie infrarouge de réflexion-absorption à modulation de polarisation (PM-IRRAS) et ellipsométrie. Ces analyses ont permis de caractériser les monocouches auto-assemblées (épaisseur, composition de thiols, ordre, morphologie) et de comparer le degré d'affinité de la HSA pour ces différentes monocouches.

### Mots clés :

**sérum-albumine humaine, électrodéposition, monocouches auto-assemblées, spectroscopie de résonance de plasmons de surface, ellipsométrie, microscopie à force atomique, spectroscopie infrarouge de réflexion-absorption à modulation de polarisation**

## Abstract

The interaction of a foreign material (ex. biomedical implant) in contact with a biological environment often leads to the adsorption of proteins. Smaller proteins with high solution concentration rapidly adsorb first and are next replaced by larger, less abundant high affinity proteins. The resulting protein composition determines the biological response towards the foreign material.

Different approaches have been developed to control the in-vivo response towards tissue replacement materials and biomedical implants. Some are aimed at preventing all protein adsorption at the interface, while others try to define, by selective adsorption, the protein composition. The approach investigated in this work uses self-assembled monolayers (SAMs) of short and long chain *n*-alkanethiols to increase the tenacity of adsorption of human serum albumin (HSA) on the SAM surface. The adsorption of HSA prevents the subsequent adsorption of other blood proteins to the surface of a biomaterial that can lead to thrombus formation. SAMs were prepared by the passive and electrochemical deposition of *n*-docosanethiol (C<sub>22</sub>SH) and *n*-dodecanethiol (C<sub>12</sub>SH). The SAMs formed, and the adsorption/desorption of HSA to/from the SAM surface were investigated by atomic force microscopy (AFM), surface plasmon resonance spectroscopy (SPR), polarization-modulation reflection-adsorption infrared spectroscopy (PM-IRRAS) and ellipsometry. These techniques allowed us to characterize the SAM structure (thickness, order, morphology, composition) and to evaluate the tenacity of HSA adsorption towards different SAMs.

### Keywords :

**human serum albumin, electrochemical deposition, self-assembled monolayers, surface plasmon resonance spectroscopy, ellipsometry, atomic force microscopy, polarization-modulation reflection-adsorption infrared spectroscopy**

## Table des Matières

Résumé . . . . .	.i
Abstract . . . . .	.ii
Table des matières . . . . .	.iii
Liste des tableaux . . . . .	.vii
Liste des figures . . . . .	viii
Liste des abréviations . . . . .	.xiii
Remerciements . . . . .	.xiv

## Chapitre 1

Introduction . . . . .	.1
1.1 Monocouches auto-assemblées . . . . .	.2
1.2 Monocouches mixtes de thiols . . . . .	.3
1.3 Sérum-albumine humaine (HSA). . . . .	.4
1.3.1 Structure . . . . .	.5
1.4 Spectroscopie de résonance de plasmons de surface (SPR) .6	
1.4.1 Théorie . . . . .	.6
1.4.2 Considérations expérimentales . . . . .	.8
1.5 Ellipsométrie . . . . .	.11
1.5.1 Théorie . . . . .	.11
1.5.2 Considérations expérimentales . . . . .	.16
1.6 Microscopie à force atomique (AFM). . . . .	.17
1.6.1 Mode contact . . . . .	.17
1.6.2 Mode Mac . . . . .	.19
1.7 Spectroscopie infrarouge de réflexion adsorption à modulation de polarisation (PM-IRRAS) . . . . .	.21

1.8	Objectifs des travaux de recherches	.23
1.9	Références	.24

## Chapitre 2

Partie expérimentale	.26
2.1 Matériel.	.26
2.2 Synthèse du 1-docosanethiol à partir du 1-bromodocosane	.27
2.3 Préparation des surfaces d'or	.27
2.4 Préparation des monocouches auto-assemblées	.28
2.4.1 Méthode de déposition passive	.28
2.4.2 Méthode de déposition électrochimique.	.28
2.5 Adsorption et désorption de la HSA sur les monocouches auto-assemblées.	.29
2.5.1 Adsorption de HSA.	.29
2.5.2 Désorption de HSA	.30
2.5.3 Étude par SPR de l'adsorption et de la désorption de HSA	.30
2.6 Technique SPR	.31
2.6.1 Appareil	.31
2.6.2 Acquisition des données et modélisation.	.33
2.7 Technique PM-IRRAS	.35
2.8 Ellipsométrie	.35
2.8.1 Appareil	.35
2.8.2 Modélisation	.36
2.9 AFM.	.37
2.10 Références.	.38



## Chapitre 3 Résultats et discussion

3.1	Calibration du spectromètre de résonance de plasmons de surface . . . . .	.39
3.1.1	Mesures de l'épaisseur de monocouches en fonction de la longueur de la chaîne alcane . . . . .	.39
3.1.2	Effet de la température . . . . .	.40
3.1.3	Épaisseur de monocouches en fonction de l'indice de réfraction . . . . .	.43
3.2	Monocouches mixtes obtenues par déposition passive . . . . .	.45
3.2.1	Épaisseur des monocouches . . . . .	.45
3.2.2	Morphologie des monocouches . . . . .	.47
3.2.3	Caractérisation des monocouches par PM-IRRAS . . . . .	.49
3.3	Monocouches mixtes préparées par déposition électrochimique . . . . .	.53
3.3.1	Épaisseur mesurée par ellipsométrie . . . . .	.53
3.3.2	Morphologie des monocouches . . . . .	.55
3.3.3	Caractérisation des monocouches par PM-IRRAS.. . . .	.57
3.4	L'interaction de HSA avec des monocouches mixtes . . . . .	.58
3.4.1	Adsorption de HSA sur des monocouches incomplètes. . . . .	.58
3.4.2	Ténacité d'adsorption de la HSA sur des monocouches mixtes obtenues par méthode d'adsorption passive . . . . .	.60
3.4.2.1	Imagerie AFM de HSA adsorbée. . . . .	.60
3.4.2.2	Mesures effectuées en SPR et ellipsométrie . . . . .	.68
3.4.2.3	Caractérisation de HSA adsorbée par PM-IRRAS. . . . .	.71

3.4.3	Ténacité d'adsorption de HSA sur des monocouches	
	mixtes obtenues par déposition électrochimique.	.72
3.4.3.1	Ellipsométrie . . . . .	.72
3.4.3.2	Imagerie AFM . . . . .	.75
3.5	Références . . . . .	.78
4.	Conclusions . . . . .	.80

## Liste des Tableaux

<b>Tableau 2.1</b>	Paramètres typiques utilisés dans le modèle de Fresnel pour les multicouches. . . . .	.34
<b>Tableau 3.1</b>	Mesure de la température pendant un balayage d'angle d'incidence en SPR. . . . .	.42
<b>Tableau 3.2</b>	Comparaison des épaisseurs de monocouches de thiols mesurées par SPR dans différents solvants pour un indice de réfraction de 1.50. . . . .	.43
<b>Tableau 3.3</b>	Comparaison des épaisseurs de monocouches de thiols mesurées par SPR dans différents solvants pour un indice de réfraction de 1.45. . . . .	.44
<b>Tableau 3.4</b>	Bandes amides de HSA sur la monocouche après adsorption de HSA . . . . .	.71
<b>Tableau 3.5</b>	Bandes amides de HSA qui reste adsorbée sur la monocouche préparée par électrodéposition après traitement avec du SDS 1%. . . . .	.71
<b>Tableau 3.6</b>	Comparaison de la ténacité d'adsorption de la HSA sur monocouches obtenues par déposition passive et électrochimiques. . . . .	.75

## Liste des Figures

<b>Figure 1.1</b>	Effet de l'adsorption de protéines sur la formation de thrombose. . . . .	.1
<b>Figure 1.2</b>	Schéma d'un arrangement ( $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R30^\circ$ ) d'alcanethiols sur une surface Au (111). . . . .	.3
<b>Figure 1.3</b>	Schématisation des monocouches formées à partir d'une solution mixte de <i>n</i> -alcanethiols ayant des longueurs de chaînes différentes. . . . .	.4
<b>Figure 1.4</b>	Structure de la HSA et la location des cavités hydrophobes occupées par les chaînes alcanes de myristate. . . . .	.5
<b>Figure 1.5</b>	Représentation des charges et du champ électromagnétique à l'interface métal/médium diélectrique. . . . .	.7
<b>Figure 1.6</b>	Relation de dispersion pour la lumière et les plasmons de surface. . . . .	.8
<b>Figure 1.7</b>	Caractéristiques de la courbe de résonance en variant l'angle d'incidence de la lumière. . . . .	.9
<b>Figure 1.8</b>	Représentation de l'effet de l'épaisseur du film métallique sur la réflectivité pour une configuration de Kretschmann. . . . .	.10
<b>Figure 1.9</b>	Représentation d'une onde électromagnétique. . . . .	.12
<b>Figure 1.10</b>	Schéma des composantes orthogonales d'un faisceau de lumière polarisée linéairement. . . . .	.13
<b>Figure 1.11</b>	Schéma des composantes orthogonales d'un faisceau de lumière polarisée sous une forme elliptique. . . . .	.14
<b>Figure 1.12</b>	Schéma des principaux éléments d'une analyse de surface par ellipsométrie. . . . .	.15
<b>Figure 1.13</b>	Réflexion d'un faisceau de 632.8 nm polarisé -p et -s selon l'angle d'incidence pour une surface d'aluminium. . . . .	.16
<b>Figure 1.14</b>	Courbe de force représentant l'interaction entre les atomes d'une pointe et d'une surface en microscopie à force atomique. . . . .	.18
<b>Figure 1.15</b>	Principe de détection d'un photodétecteur à quatre quadrants. (A) Torsion; (B) déflexion. . . . .	.18

<b>Figure 1.16</b>	Illustration de la technique MacMode.	.20
<b>Figure 1.17</b>	Composantes du champ électrique du faisceau incident et réfléchi sur une surface métallique.	.21
<b>Figure 2.1</b>	Cinétique d'adsorption de thiols sur l'or sous un potentiel appliqué de 0.20 V (vs. Ag/AgCl).	.29
<b>Figure 2.2</b>	Schéma de la cellule utilisée pour les mesures d'adsorption et de désorption de HSA en SPR.	.32
<b>Figure 2.3</b>	Schéma des principales composantes du spectromètre utilisé pour les mesures SPR.	.33
<b>Figure 2.4</b>	Illustration du microscope à force atomique PicoSPM.	.37
<b>Figure 3.1</b>	Comparaison des épaisseurs de monocouches d'alcanethiols calculées et déterminées expérimentalement dans l'air.	.39
<b>Figure 3.2</b>	Courbe SPR pour une surface d'or en contact avec de l'eau purifiée.	.41
<b>Figure 3.3.</b>	Comparaison des épaisseurs de monocouches de thiols mesurées par SPR dans différents solvants pour les indices de réfraction de 1,45 et 1,5.	.44
<b>Figure 3.4.</b>	Effet du choix de la constante diélectrique ( $\epsilon$ ) de la monocouche et du solvant sur l'épaisseur mesurée. Les flèches tombantes représentent la variation de l'épaisseur mesurée lorsque l'on surestime la constante diélectrique.	.45
<b>Figure 3.5</b>	Épaisseur de monocouche mixte de $C_{12}SH$ et de $C_{22}SH$ mesurée dans l'isooctane par SPR.	.46
<b>Figure 3.6</b>	Épaisseur de monocouche mixte de $C_{12}SH$ et de $C_{22}SH$ mesurée dans l'air par ellipsométrie.	.47
<b>Figure 3.7</b>	Images AFM obtenues dans l'air d'une surface d'or préparée par évaporation thermique de l'or sous pression réduite sur une lame de verre LaSFN <sub>9</sub> .	.48
<b>Figure 3.8</b>	Images AFM (1 $\mu m$ x 1 $\mu m$ ) obtenues dans l'air. (A) monocouche de $C_{12}SH$ ; (B) monocouche obtenue à partir d'une solution d'alcanethiols de rapport $C_{12}SH / C_{22}SH = 3$ .	.49

- Figure 3.9** Spectre PM-IRRAS d'une monocouche mixte d'alcanethiol sur or montrant les principales bandes de vibrations  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ . .50
- Figure 3.10** Variation de la fréquence des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  observée pour des monocouches en fonction du rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  dans la solution d'isooctane pour une déposition passive. . . . .51
- Figure 3.11** Variation du rapport des intensités des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_3)$  avec la composition des thiols en solution pour des monocouches mixtes obtenues par déposition passive dans l'isooctane. . . . .52
- Figure 3.12** Épaisseur mesurée par ellipsométrie pour différentes monocouches obtenues par déposition électrochimique. . . . .53
- Figure 3.13** Épaisseur mesurée par ellipsométrie pour différentes monocouches obtenues par déposition passive à partir des solution utilisées pour la déposition électrochimique. . . . .55
- Figure 3.14** Image AFM ( $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ ) dans l'air de monocouches adsorbées électrochimiquement sur de l'or à partir de solutions d'alcantiols composées de : (A)  $\text{C}_{12}\text{SH}$  ; (B)  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} = 3$  ; (C)  $\text{C}_{12}\text{SH} / \text{C}_{22}\text{SH} = 1$ . . . . .56
- Figure 3.15** Variation de la fréquence des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  pour les monocouches obtenues par déposition électrochimique. .57
- Figure 3.16** Variation mesurée par PM-IRRAS de la composition de thiols dans les monocouches mixtes obtenues par déposition électrochimique. . . . .58
- Figure 3.17** Cinétique de désorption de HSA dans du SDS 1% pour des monocouches complètes et incomplètes de  $\text{C}_{22}\text{SH}$  mesurée par SPR.. . . .59
- Figure 3.18** Image AFM ( $40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$ ) obtenue en mode contact dans l'air de HSA sur une monocouche mixte de thiols. . . . .60
- Figure 3.19** Images AFM ( $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ ) obtenues dans l'eau d'une séquence adsorption-désorption de HSA sur une monocouche de  $\text{C}_{12}\text{SH}$ . . . . .61

<b>Figure 3.20</b>	Images AFM obtenues dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche préparée par déposition passive à partir d'une solution mixte d'alcanethiols de rapport $C_{12}SH/C_{22}SH = 4$ dans l'isooctane. . . . .	.62
<b>Figure 3.21</b>	Schéma de l'adsorption de la deuxième couche de HSA lors du retrait de la lame d'une solution aqueuse à l'air. . . . .	.63
<b>Figure 3.22</b>	Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de $C_{12}SH$ . . . . .	.64
<b>Figure 3.23</b>	Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche préparée à partir d'une solution de rapport $C_{12}SH/C_{22}SH = 3$ . . . . .	.64
<b>Figure 3.24</b>	Images AFM dans l'air de la HSA adsorbée sur une monocouche de $C_{22}SH$ . . . . .	.65
<b>Figure 3.25</b>	Images AFM ( $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ) dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche mixte de thiols après élution par SDS. . . . .	.65
<b>Figure 3.26</b>	Effet de la nature de la pointe et de la contamination sur l'image (AFM). . . . .	.66
<b>Figure 3.27</b>	Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche de $C_{22}SH$ après traitement avec une solution de SDS 1%. . . . .	.67
<b>Figure 3.28</b>	Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport $C_{12}SH/C_{22}SH$ de 2 après traitement avec une solution de SDS 1%. . . . .	.67
<b>Figure 3.29</b>	Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport $C_{12}SH/C_{22}SH$ de 3 après traitement avec une solution de SDS 1%. . . . .	.68
<b>Figure 3.30</b>	Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche de $C_{12}SH$ après traitement avec une solution de SDS 1%. . . . .	.68
<b>Figure 3.31</b>	Résultats des cinétiques d'adsorption et de désorption de HSA sur les monocouches obtenues par déposition passive de thiols. . . . .	.69

<b>Figure 3.32</b> HSA sur monocouches d'alcanethiols avant et après désorption par SDS..	.70
<b>Figure 3.33</b> Bandes amides de HSA adsorbée sur monocouche de $C_{22}SH$ ..	72
<b>Figure 3.34</b> HSA adsorbée sur des monocouches mixtes formées par électrodéposition d'alcanethiols.	.73
<b>Figure 3.35</b> Épaisseur de HSA après élution par SDS. Chaque donnée est la moyenne d'un minimum de 4 mesures ellipsométriques.	.74
<b>Figure 3.36</b> Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de $C_{22}SH$ .	.76
<b>Figure 3.37</b> Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport $C_{12}SH/C_{22}SH$ de 1.	.76
<b>Figure 3.38</b> Images AFM dans l'air de la HSA adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport $C_{12}SH / C_{22}SH$ de 3.	.77
<b>Figure 3.39</b> Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de $C_{12}SH$ .	.77



## Liste des abréviations

AFM	Atomic force microscope – microscope à force atomique
Arg	Arginine
ATR	Total internal reflection – réflexion total interne
Da	Dalton
FT-IR	Fourier Transform Infrared - infrarouge à transformée de Fourier
His	Histidine
HSA	Human Serum Albumin – sérum-albumine humaine
Lys	Lysine
MeOH	Méthanol
PEM	Photoélastic modulator – modulateur photoélastique
PM-IRRAS	Spectroscopie infrarouge de réflexion-absorption à modulation de polarisation
R	Réflectivité
RF	Résonance de Fermi
SAM(s)	Self-assembled monolayer – monocouches auto-assemblée
SPR	Surface plasmon resonance spectroscopy - spectroscopie de résonance des plasmons de surface
Ser	Sérine
Tyr	Tyrosine
THF	Tétrahydrofurane

## Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier ma directrice de recherche, la professeure Antonella Badia, pour m'avoir accepté dans son groupe de recherche, donné l'occasion de travailler librement avec des instruments de pointe, pour le support financier et enfin, pour l'aide apportée dans la rédaction de ce mémoire.

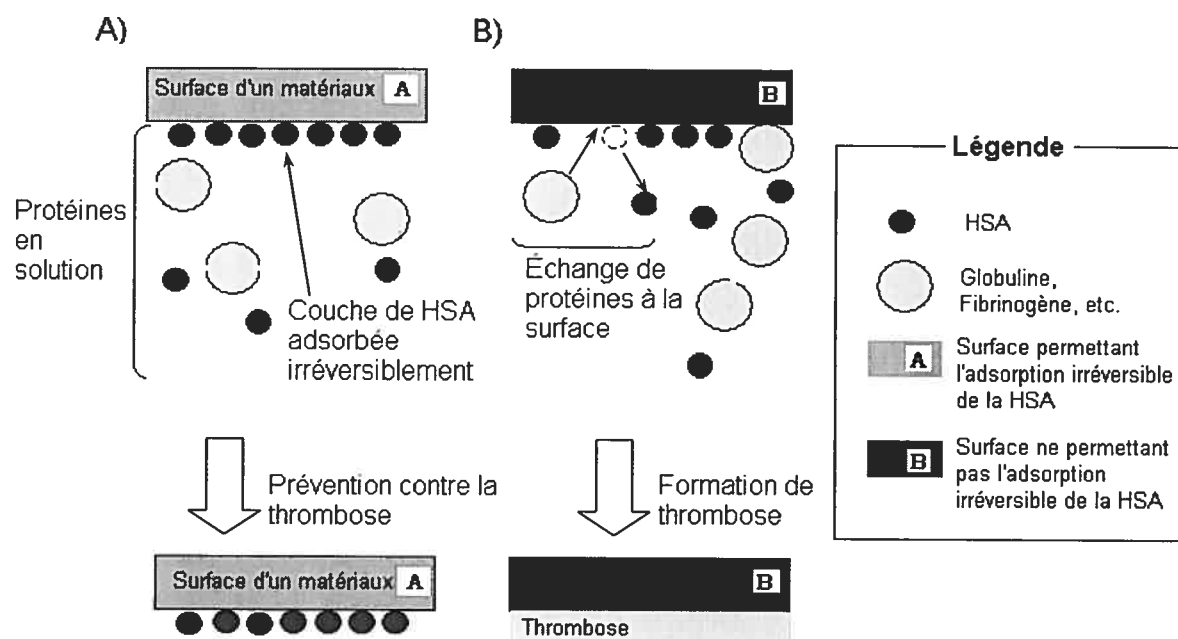
Je tiens également à remercier tous les membres du groupe de recherche; Patricia Moraille pour la formation sur le microscope à force atomique et la préparation de surfaces d'or modifiées avec des alcanethiols. Jacqueline Sanchez pour la formation sur l'ellipsomètre. Lana Norman pour l'aide apportée durant la synthèse du docosanethiol, l'acquisition des spectres RMN et la formation sur le PM-IRRAS. Yali Liu et Stéphanie Juneau pour les formations sur l'AFM.

Enfin, je tiens à remercier les gens des ateliers électroniques et mécaniques. Louis Beaumont, Julien Del Testa, Jean-François Myre et Martin Lambert pour leur support technique et pour la fabrication de dispositifs utilisés dans les travaux de recherche.

## Chapitre 1

### Introduction

Depuis longtemps, plusieurs chercheurs ont tenté d'apporter des solutions concernant la biocompatibilité des matériaux en déterminant la relation entre les propriétés physico-chimiques d'un matériau et son affinité pour différentes protéines. Déjà en 1975, un mécanisme pour la formation de thrombose à la surface de polymères à base de polyuréthane fut suggéré.<sup>1</sup> L'effet de l'adsorption de la sérum-albumine humaine (HSA) est représenté à la figure 1.1. Ainsi, une surface sur laquelle de la HSA a été adsorbée de façon irréversible ne mène pas à la formation de thrombose.<sup>1</sup>



**Figure 1.1** Effet de l'adsorption de protéines sur la formation de thrombose. Cas d'une surface : (A) qui empêche la formation de la thrombose; (B) qui mène à la formation de thrombose.

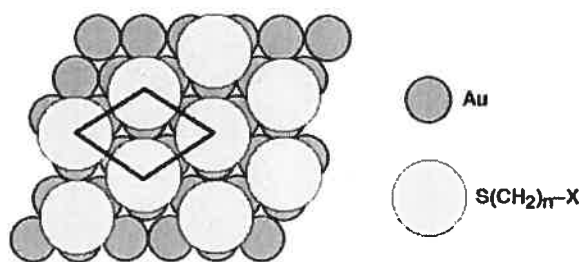
Plusieurs équipes de recherche<sup>2-4</sup> ont par la suite tenté d'augmenter la ténacité d'adsorption de la sérum-albumine humaine (HSA) envers différentes surfaces afin d'éliminer la formation de thrombose. Les surfaces les plus étudiées ont été les surfaces de

polymères et les monocouches auto-assemblées (« self-assembled monolayers » ou « SAMs »). Les surfaces de polymères, sur lesquelles des chaînes d'alcanes étaient greffées pour permettre des interactions spécifiques avec les poches hydrophobes de la HSA, se sont avérées efficaces pour l'adsorption de la protéine, mais inefficace à long terme. En effet, les chaînes d'alcanes en milieux aqueux migraient vers l'intérieur de la surface de polymère et n'étaient plus disponibles pour interagir avec la HSA. Plusieurs groupes se sont donc tournés vers les monocouches auto-assemblées d'alcanethiols sur de l'or<sup>5,6</sup> ou d'alcanesilanes sur du silicium<sup>2,3,7</sup> puisque les chaînes d'alcanes de ces dernières sont fixées à la surface du substrat par un lien covalent, évitant ainsi la migration des chaînes en milieux aqueux.

Enfin, l'étude entreprise dans ce mémoire vise principalement à vérifier les effets d'interactions spécifiques avec les poches hydrophobes de la HSA et des interactions hydrophobiques non-spécifiques sur la ténacité d'adsorption de la HSA envers différentes monocouches mixtes d'alcanethiols sur l'or obtenues par déposition passive et électrochimique.

## 1.1 Monocouches auto-assemblées

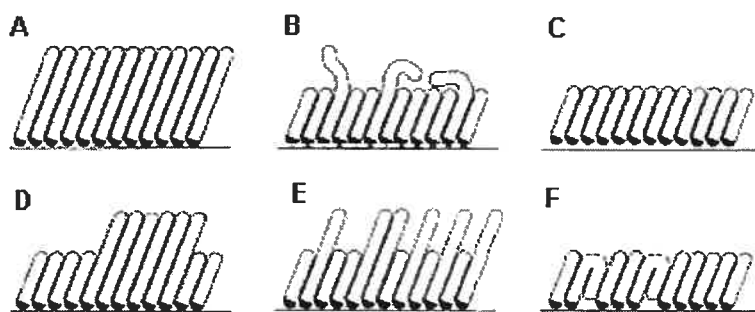
Les alcanethiols s'adsorbent chimiquement sur les surfaces d'or pour former une monocouche dite « auto-assemblée ». Suite à l'adsorption d'alcanethiols, la surface devient hydrophobe et son énergie est grandement diminuée ( $19 \text{ mJ/m}^2$ ).<sup>8</sup> La densité des chaînes dans ces monocouches dépend, entre autre, de la surface d'or. Il a été démontré que l'adsorption de thiols sur l'or (111) est plus dense que sur l'or (110). Sur une surface (111), les thiols s'adsorbent dans le creux formé par trois atomes d'or donnant lieu à un arrangement ( $(\sqrt{3} \times \sqrt{3} R 30^\circ)$ ) et une densité de  $\sim 21 \text{ \AA}^2/\text{molecule}$ .<sup>10</sup> Par contre, l'adsorption de thiols sur l'or (110) s'effectue dans le creux formé par quatre atomes d'or, donnant lieu à un arrangement  $c(2 \times 2)$ .<sup>9</sup>



**Figure 1.2** Schéma d'un arrangement ( $\sqrt{3} \times \sqrt{3} R 30^\circ$ ) d'alcanethiols sur une surface Au (111). Figure reproduite de la référence 10.

## 1.2 Monocouches mixtes d'alcanethiols

L'adsorption à partir d'un mélange binaire d'alcanethiols ayant différentes longueurs de chaînes est contrôlée par la thermodynamique. C'est à dire, le thiol le moins soluble s'adsorbe de manière préférentielle. Il a en effet été démontré par XPS, par des mesures d'angle de contact et par ellipsométrie qu'un ratio  $\text{thiol}_{\text{court}}/\text{thiol}_{\text{long}}$  en solution d'éthanol de 20 est nécessaire à l'obtention d'un ratio  $\text{thiol}_{\text{court}}/\text{thiol}_{\text{long}}$  de 1 à la surface.<sup>11</sup> Ce ratio diminue à 9 dans l'isooctane (un meilleur solvant que l'éthanol).<sup>11</sup> Ainsi, une action de masse est nécessaire pour introduire à l'intérieur de la monocouche le thiol le plus soluble en solution. Dans la plupart des cas, la composition des thiols adsorbés en surface diffère de celle de la solution d'incubation. Différents scénarios sont proposés dans la littérature pour la structure des monocouches mixtes obtenues.<sup>11</sup> Ces structures sont présentées à la figure 1.3.



**Figure 1.3** Schématisation des monocouches formées à partir d'une solution mixte de *n*-alcanethiols ayant des longueurs de chaînes différentes. (A) Monocouche pure de thiols à longues chaînes. (B) Monocouche mixte avec région externe désordonnée. (C) Monocouche pure de thiols à courtes chaînes. (D) Formation de domaine (séparation de phase). (E) Monocouche mixte avec région externe ordonnée. (F) Monocouche mixte très instable. Figure reproduite de la référence 11 .

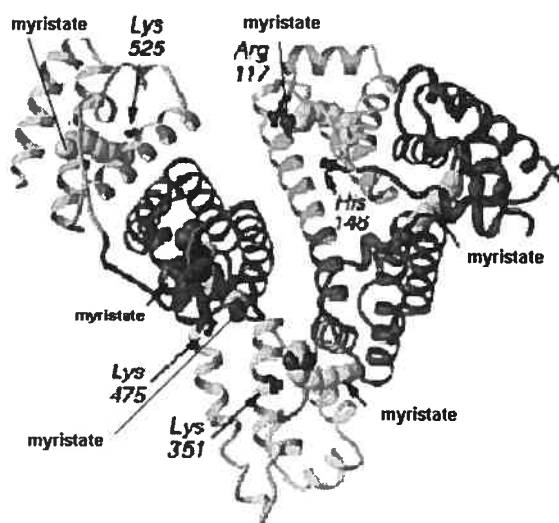
Il a été démontré par des mesures d'angle de contact, qu'il n'y a pas de formation de domaines microscopiques (cas D de la figure 1.3). Les structures qui correspondent aux cas E et F sont thermodynamiquement instables et ne seront donc pas considérées. Ainsi, en considérant les structures A à C, on observe qu'il est possible d'introduire du désordre dans la région externe d'une monocouche.

### 1.3 Sérum-albumine humaine (HSA)

La HSA est la protéine la plus abondante du système circulatoire sanguin. Cette protéine, de poids moléculaire de 66 400 Da, est synthétisée par le foie et elle est présente dans le sang à une concentration d'environ 40 mg/ml.<sup>2,12</sup> Malgré sa capacité à se lier à une multitude de composés chimiques, son rôle majeur dans le système circulatoire sanguin est de transporter les acides gras.

### 1.3.1 Structure

La structure cristallographique de la HSA, connue depuis déjà plusieurs années, est constituée de 585 acides aminés distribués dans trois domaines.<sup>13</sup> La protéine contient un grand pourcentage d'hélice- $\alpha$  et un nombre anormalement élevé de ponts disulphures (17 ponts). La forme de la protéine peut être comparée à un triangle équilatéral dont chaque côté mesure environ 8 nm et dont l'épaisseur est d'environ 3 nm. La protéine contient des cavités hydrophobes à l'entrée desquelles se trouvent des résidus chargés positivement (Arg, Lys) ou polaire (Ser, Tyr), permettant la formation de ponts hydrogènes avec le groupement carboxylate de l'acide gras. Il n'y a pas encore de consensus sur le nombre et la position exacte de ces cavités. Il semble y avoir 5 cavités principales distribuées asymétriquement dans la protéine qui permettent l'interaction avec des acides gras à longue et moyenne chaîne alcane. Un schéma de la HSA ayant ces poches hydrophobes remplis par des molécules de myristate est présenté à la figure 1.4.



**Figure 1.4** Structure de la HSA et la location des cavités hydrophobes occupées par les chaînes alcane de myristate. Figure reproduite de la référence 14.

## 1.4 Spectroscopie de résonance de plasmons de surface (SPR)

L'existence des plasmons de surface a été prédite par Ritchie<sup>15</sup> en 1957 et vérifiée par Powell et Swan<sup>16</sup> en 1960. L'utilisation de la lumière pour exciter les plasmons de surface a été démontré en 1968 par Otto.<sup>17</sup> La SPR est une technique très versatile qui permet de suivre en temps réel une multitude de processus qui se produisent sur une surface. L'adsorption moléculaire à l'interface solide/gaz et solide/liquide est seulement un des phénomènes qui peuvent être étudiés par SPR.<sup>18</sup>

### 1.4.1 Théorie

Les électrons de conduction des métaux sont libres de tout mouvements à l'intérieur du réseau d'atomes que forme le métal. Par contre, près de la surface, certains électrons possèdent suffisamment d'énergie cinétique pour quitter le réseau métallique. Ces électrons, en quittant le réseau, laisse une distribution de charges qui agit sur ces derniers pour les ramener dans le réseau. Ainsi, il se produit un mouvement oscillatoire perpendiculaire à la propagation de l'onde. De plus, la fréquence d'oscillation de ces électrons ne peut prendre que certaines valeurs discrètes. Ces valeurs dépendent entre autres des propriétés physiques du métal et du milieu en contact avec la surface métallique. La fréquence des plasmons de surface ( $\omega_{sp}$ ) pour un film métallique en contact avec le vide est donnée par la relation :

$$\omega_{sp} = \omega_p / 2 \quad (1)$$

$$\text{où } \omega_p = 4\pi n_e e^2 / m_0$$

$$n_e = \text{densité d'électrons}$$

$$e = \text{charge élémentaire } (1.602176 \times 10^{-19} \text{ C})$$

$$m_0 = \text{masse de l'atome métallique}$$

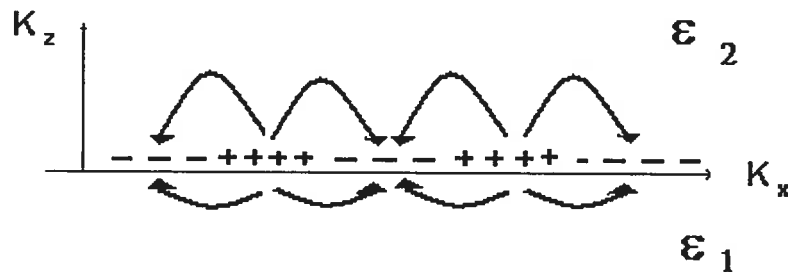


La relation (1) développée par Ritchie fait ressortir le lien entre la fréquence d'oscillation des plasmons et les propriétés physiques du métal. Une équation plus détaillée, développée par Stern et Ferrell, met en évidence le rôle du médium en contact avec la surface métallique.<sup>19</sup>

$$\omega_{sp} = \omega_p / (1 + \epsilon_2)^{0.5} \quad (2)$$

où  $\epsilon_2$  = constante diélectrique du médium en contact avec la surface métallique

Puisque l'indice de réfraction ( $n$ ) d'un médium qui n'adsorbe pas la lumière visible correspond à la racine carrée de la constante diélectrique ( $\epsilon = n^2$ ), il est commun de dire que la fréquence d'oscillation des plasmons de surface dépend de l'indice de réfraction du médium en contact avec la surface. La distribution de charges à la surface du métal est schématisée à la figure 1.5.



**Figure 1.5** Représentation des charges et du champ électromagnétique à l'interface métal/médium diélectrique.  $\epsilon_1$  est la constante diélectrique du métal et  $\epsilon_2$  est la constante diélectrique du médium en contact avec la surface métallique.

Les plasmons de surface sont à la fois une onde électromagnétique qui se propage le long de l'interface et une onde évanescence (car le champ électrique tend vers 0 lorsque l'on s'éloigne de l'interface). En considérant les équations de Maxwell, les relations de dispersion pour les plasmons de surfaces et la lumière sont obtenues.

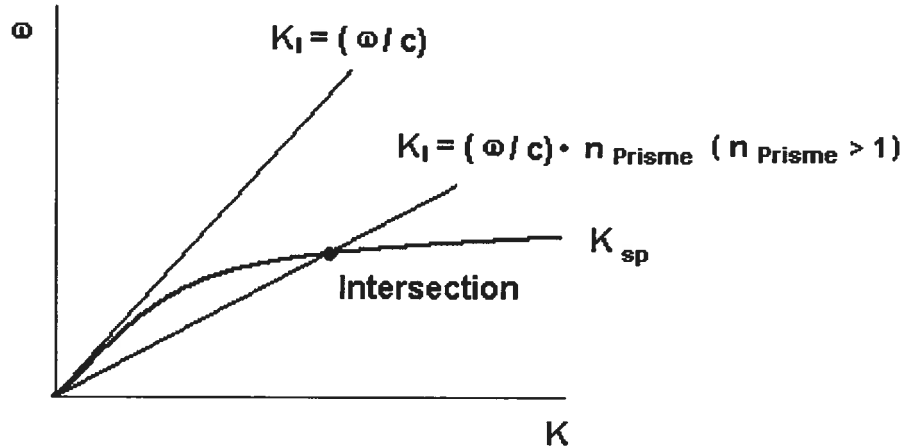
$$K_{sp} = (\omega/c) ((\epsilon_1 \epsilon_2) / (\epsilon_1 + \epsilon_2)) \quad (3)$$

$$K_l = (\omega/c) \sin\theta \quad (4)$$

où  $K_{sp}$  = vecteur d'onde des plasmons de surface

$K_l$  = vecteur d'onde de la lumière

Les relations de dispersion pour la lumière et les plasmons de surface, schématisées à la figure 1.6, montrent qu'il est impossible de coupler la lumière avec les plasmons sans augmenter  $K_l$ , soit sans diminuer la longueur d'onde de la lumière. En effet, pour avoir un couplage entre la lumière incidente et les plasmons de surface, l'énergie (reliée par  $\omega$ ) et la quantité de mouvement (défini par  $K$ ) doivent être identiques pour la lumière et le plasmon. Il est possible d'obtenir ce résultat en utilisant un prisme à grand indice de réfraction ( $n > 1$ ) pour le couplage. De cette façon, il existe un point d'intersection entre les relations de dispersion de la lumière et des plasmons de surface.

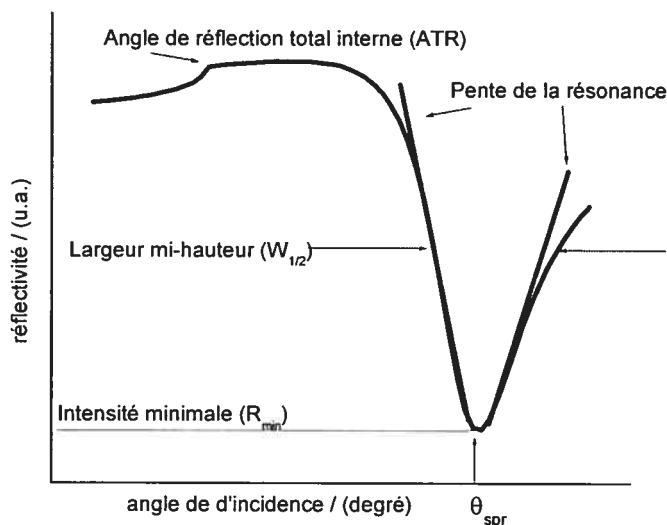


**Figure 1.6** Relations de dispersion pour la lumière et les plasmons de surface.

#### 1.4.2 Considérations expérimentales

Une façon d'acquérir des données en SPR consiste à mesurer la réflectivité de la lumière excitatrice en fonction de l'angle d'incidence

sur la face du prisme utilisé pour le couplage. De cette façon, la courbe obtenue possède les caractéristiques présentées à la figure 1.7.

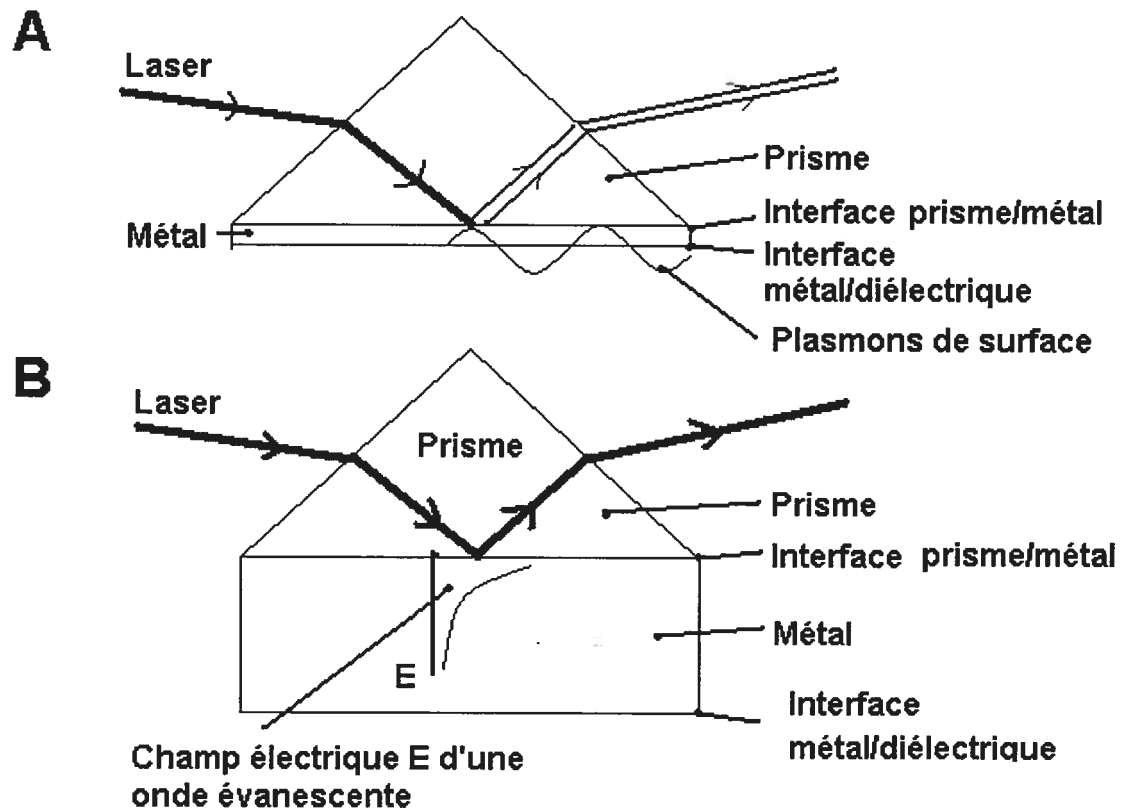


**Figure 1.7** Caractéristiques de la courbe de résonance en variant l'angle d'incidence de la lumière.

La réduction de la réflectivité est un phénomène qui résulte du couplage entre le faisceau incident et les plasmons de surface. Ces derniers absorbent l'énergie du faisceau et l'intensité de la lumière réfléchie diminue. L'angle de couplage ( $\theta_{spr}$ ) des plasmons de surface avec la lumière correspond donc au minimum de réflectivité ( $R_{min}$ ) enregistré. La sensibilité des mesures effectuées dépend de ce minimum et de la largeur à mi-hauteur ( $W_{1/2}$ ) de la courbe de résonance. Ainsi, une courbe étroite et profonde procure une plus grande sensibilité pour les mesures d'adsorption.

Un paramètre critique qui influence  $W_{1/2}$  et  $R_{min}$  est l'épaisseur du film métallique. Il y a deux mécanismes d'atténuation qui s'opposent au couplage des plasmons de surface avec la lumière : l'atténuation intrinsèque (« intrinsic damping ») et l'atténuation radiative (« radiative damping »). Le premier provient du fait que la majorité des films métalliques ont un coefficient d'extinction élevé. L'épaisseur du film

métallique ne doit pas être trop élevée afin de permettre à l'onde évanescente créée à l'interface entre le prisme et le film métallique d'atteindre l'interface entre le film métallique et le deuxième diélectrique. Un schéma de la situation est présenté à la figure 1.8B.



**Figure 1.8** Représentation de l'effet de l'épaisseur du film métallique sur la réflectivité pour une configuration de Kretschmann.<sup>20</sup>  
(A) Atténuation radiative; (B) atténuation intrinsèque.

Le deuxième mécanisme est le résultat de la conversion des plasmons de surface en lumière. Cela est possible seulement si le film métallique est suffisamment mince pour que le champ électromagnétique créé suite à la formation des plasmons de surface puisse atteindre la surface du prisme. Le résultat des deux mécanismes est l'augmentation de la réflectivité (figure 1.8A).

Ainsi, il existe une épaisseur optimale ( $d_{\text{optimale}}$ ) permettant d'obtenir un  $R_{\text{min}}$  le plus petit possible pour une longueur d'onde donnée. Lorsque le film métallique est plus épais que  $d_{\text{optimale}}$ , l'effet de l'atténuation intrinsèque augmente. Lorsque le film métallique est plus mince que  $d_{\text{optimale}}$ , l'effet de l'atténuation radiative augmente. Les effets d'autres facteurs, tel que la température et la rugosité du film métallique sont bien traités dans la littérature.

## 1.5 Ellipsométrie

### 1.5.1 Théorie<sup>21</sup>

L'ellipsométrie est une technique qui utilise la lumière polarisée pour caractériser les surfaces. Cette technique mesure le changement de l'état de polarisation de la lumière lors de la réflexion sur une surface. L'état de polarisation de la lumière fait référence à la fluctuation du champ électrique en fonction du temps.

À partir des équations de Maxwell pour les matériaux non conducteurs et non dispersifs (signifie que la permittivité diélectrique ne dépend pas de la fréquence angulaire), la relation décrivant le champ électrique ( $E$ ) peut être obtenue :

$$E(z,t) = E_0 \exp(i ((2\pi \tilde{n}) / \lambda )*(q \cdot z)*\exp(-i\omega t) \quad (5)$$

où  $E_0$  = vecteur complexe constant représentant l'amplitude et la polarisation de l'onde

$\omega$  = fréquence angulaire

$q$  = vecteur unitaire en direction de la propagation

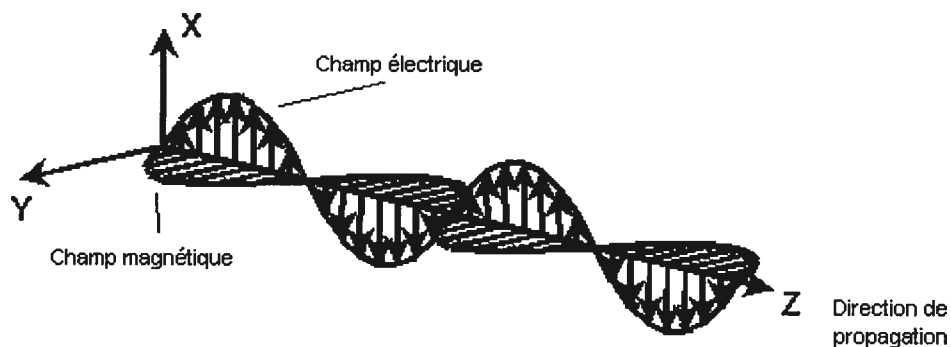
$\tilde{n}$  = indice de réfraction complexe ( $n + ik$ )

$z$  = direction de propagation

$\lambda$  = longueur d'onde de la lumière

$t$  = temps

$i$  = nombre complexe

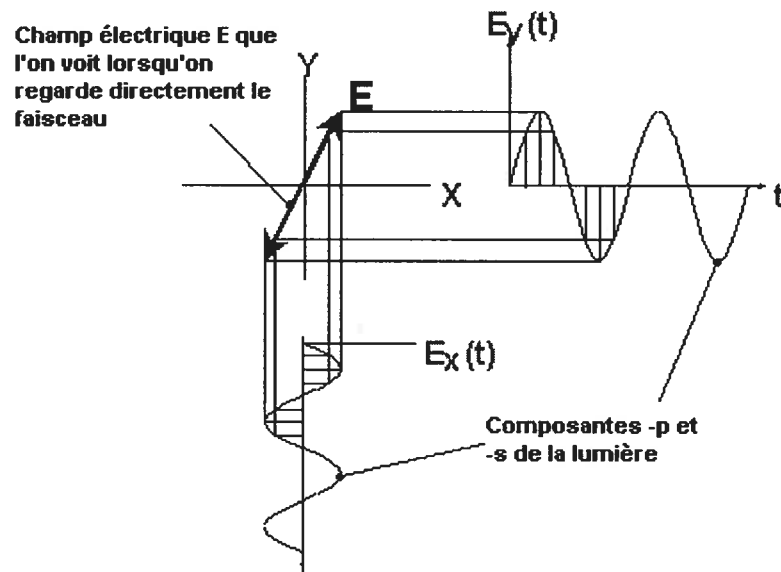


**Figure 1.9** Représentation d'une onde électromagnétique.

L'indice de réfraction complexe ( $\tilde{n}$ ) d'un matériau comprend l'indice de réfraction ( $n$ ) et le coefficient d'extinction ( $k$ ). Si ce dernier n'est pas 0, l'amplitude du champ électrique va diminuer exponentiellement et la profondeur à laquelle l'amplitude équivaut à  $1/e$  ( $e = 2,71828\dots$ ) de l'amplitude initiale est donnée par la profondeur de pénétration ( $D_p$ ):

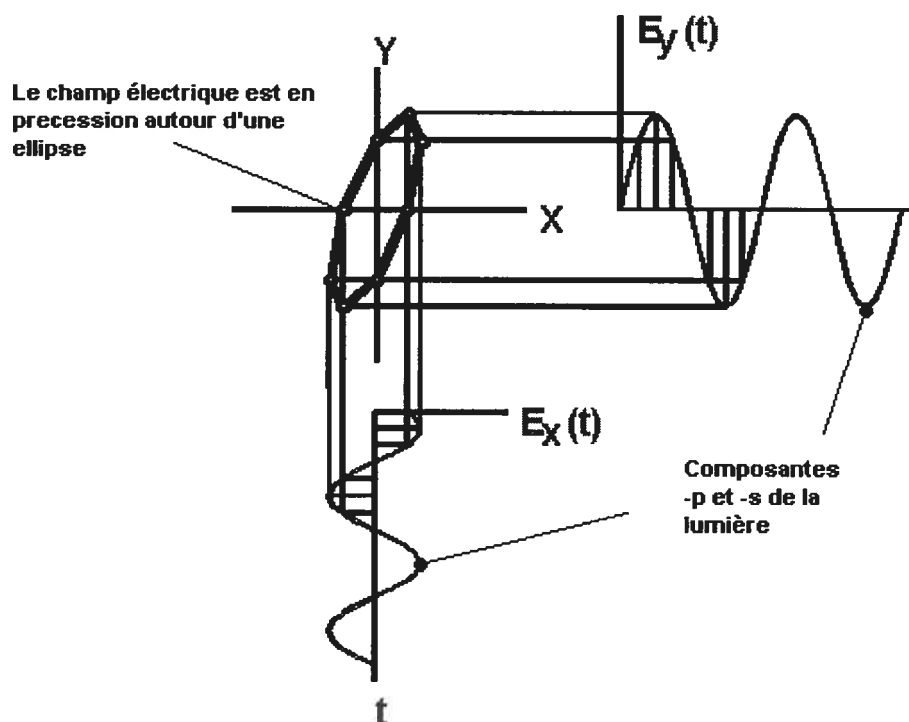
$$D_p = 1 / 2\pi k \quad (6)$$

Pour des matériaux isotropiques, le vecteur  $E_0$  est toujours dans un plan perpendiculaire à la direction de propagation. Chaque état de polarisation peut être décrit à partir d'une combinaison de deux vecteurs orthogonaux. Ces vecteurs se retrouvent dans les plans  $-p$  et  $-s$  de la lumière. En ellipsométrie, le plan  $-p$  est défini par le plan d'incidence, où le plan d'incidence est le plan qui contient le faisceau incident et réfléchi. Le plan  $-s$  (du mot allemand "senkrecht" pour perpendiculaire) est défini comme le plan perpendiculaire au plan  $-p$ . Un faisceau de lumière polarisé linéairement est schématisé avec ces deux composantes orthogonales à la figure 1.10.



**Figure 1.10** Schéma des composantes orthogonales d'un faisceau de lumière polarisée linéairement. Figure reproduite de la référence 21.

Les changements d'états suite à la réflexion du faisceau incident peuvent être caractérisés par les valeurs de  $\psi$  ( $\psi$ ) et  $\Delta$  ( $\Delta$ ).  $\Delta$  est un paramètre qui décrit le changement de phase entre les champs électriques des plan  $-p$  et  $-s$ .  $\psi$  est un paramètre qui décrit le changement d'amplitude. À partir d'un faisceau de lumière polarisé linéairement, un changement de phase et d'amplitude induit un changement d'état de polarisation. L'état de polarisation de la forme d'une ellipse est présenté à la figure 1.11.



**Figure 1.11** Schéma des composantes orthogonales d'un faisceau de lumière polarisée sous une forme elliptique. La figure est reproduite de la référence 21.

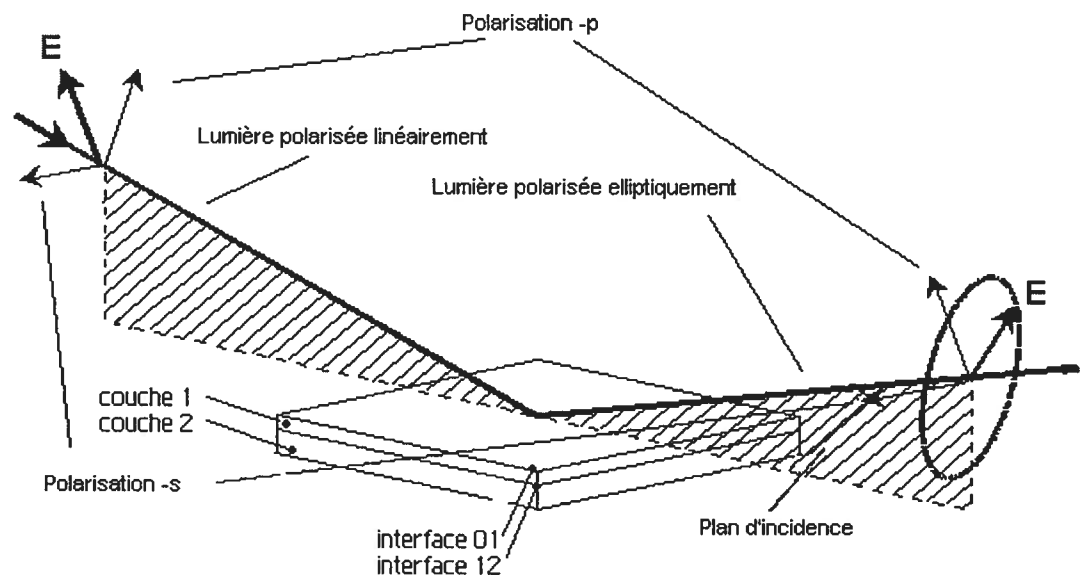
Ainsi, une mesure en ellipsométrie consiste à mesurer une ellipse, d'où le nom « ellipsométrie ». Les valeurs de  $\psi$  et  $\Delta$  sont reliées aux coefficients de réflexion de Fresnel  $R_p$  et  $R_s$  par la relation suivante:

$$R = R_p / R_s = \tan(\psi) e^{i\Delta} \quad (7)$$

La grande sensibilité de l'ellipsométrie provient de la mesure de  $\Delta$ . Sa grande précision provient du fait que l'ellipsométrie mesure un ratio de deux valeurs, soit  $R_p/R_s$ .



Un schéma présentant les différents éléments d'une analyse ellipsométrique est présenté à la figure 1.12.



**Figure 1.12** Schéma des principaux éléments d'une analyse de surface par ellipsométrie. La figure est reproduite de la référence 21.

En mesurant le ratio  $R_p/R_s$ , les paramètres  $\psi$  et  $\delta$  sont obtenus et l'épaisseur d'un film peut être calculée :

$$R_p = r_{p01} + r_{p12} \exp(-i2\beta) / 1 + r_{p01}r_{p12} \exp(-i2\beta) \quad (8)$$

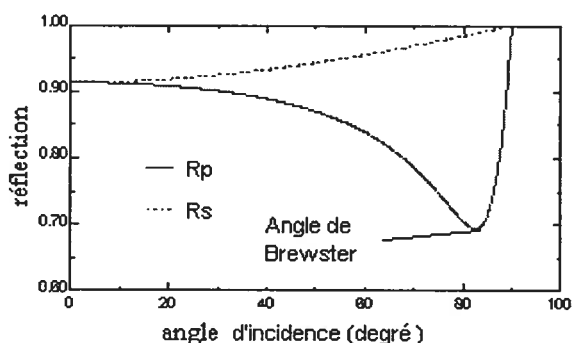
$$R_s = r_{s01} + r_{s12} \exp(-i2\beta) / 1 + r_{s01}r_{s12} \exp(-i2\beta) \quad (9)$$

$$\beta = 2\pi(d_1/\lambda)n_1\cos\theta_1 \quad (10)$$

Où  $r_p$  = coefficient de réflexion de Fresnel à une interface  
 $r_p$  = coefficient de réflexion de Fresnel à une interface pour la lumière p-polarisée  
 $d_1$  = épaisseur de la couche 1 (référence à la figure 1.12)  
 $n_1$  = indice de réfraction de la couche 1  
 $\theta_1$  = angle incidence du faisceau incident

### 1.5.2 Considérations expérimentales

L'ellipsométrie donne des mesures très reproductibles car la réflectance absolue n'a pas besoin d'être mesurée. On n'a pas besoin de référence. Ainsi les mesures peuvent être prises sans tenir compte des fluctuations de la source, de la dispersion de la lumière à la surface, etc. La mesure du ratio  $R_p/R_s$  est effectuée à l'angle de Brewster. L'angle de Brewster est défini comme étant l'angle auquel la différence entre  $R_p$  et  $R_s$  est maximale. Un exemple est démontré à la figure 1.13.



**Figure 1.13** Réflexion d'un faisceau de 632.8 nm polarisé -p et -s selon l'angle d'incidence pour une surface d'aluminium. La figure est reproduite de la référence 21.

Ainsi, environ 90% de la lumière est réfléchi pour un angle d'incidence de  $0^\circ$ . En augmentant l'angle d'incidence, la réflexion de la lumière polarisée -p diminue, tandis que la lumière polarisée -s augmente légèrement. Après avoir atteint un minimum à l'angle de Brewster, la réflexion de la lumière polarisée -p augmente drastiquement pour atteindre 100% à un angle d'incidence de  $90^\circ$  (à cet angle, le faisceau incident illumine directement le détecteur).

La caractérisation de films minces par ellipsométrie est possible lorsque l'écart entre la longueur d'onde de la lumière et l'épaisseur du film n'est pas trop grande. Pour des films d'épaisseur allant de 1 Å à 1  $\mu\text{m}$ , une source dans l'UV et le visible est utilisée.

La rugosité de surface doit être inférieure à 10% de la longueur d'onde utilisée afin d'éviter la dispersion non spéculaire du faisceau incident, ce qui causerait la dépolarisation du faisceau spéculaire réfléchi<sup>21</sup>.

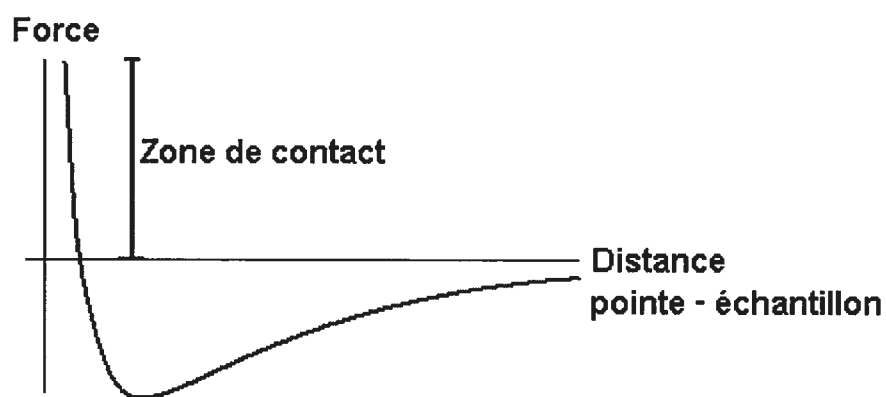
L'ellipsométrie ne peut donner d'information sur les matériaux ayant un coefficient d'extinction  $k$  trop élevé car la lumière doit pouvoir pénétrer l'échantillon et en ressortir. Ainsi l'épaisseur de films métalliques de plus de 50 nm ne peut être mesurée par ellipsométrie.

## 1.6 Microscopie à force atomique (AFM)

Le microscope à force atomique a été inventé en 1986 par Binnig, Quate et Gerber.<sup>22</sup> Comme son nom l'indique, l'AFM mesure les forces à une échelle atomique. Ces forces sont le résultat d'interactions entre les atomes d'une fine pointe et ceux d'un échantillon. La limite de détection de forces est d'environ  $10^{-13}$ - $10^{-8}$  N. Ces forces sont détectées par la mesure de la déflexion d'un microlevier, dont la constante de force se situe entre 0.01 et 100 N/m. Ainsi, l'AFM permet d'obtenir des images en trois dimensions d'une surface avec une résolution verticale de 0.01 nm et latérale de quelques nanomètres.<sup>23</sup>

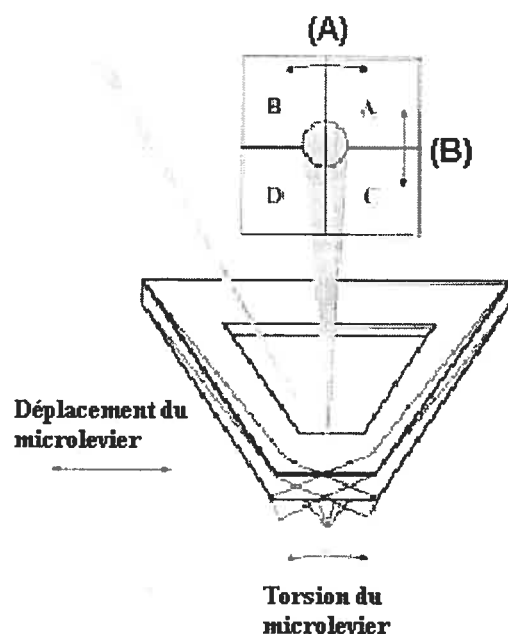
### 1.6.1 Mode contact

Le mode contact est le plus commun des nombreux modes AFM. Comme son nom l'indique, le mode contact consiste à maintenir la pointe en contact avec la surface pendant l'acquisition des images. La pointe n'est jamais réellement en contact avec la surface. La zone de contact est la distance à laquelle la pointe commence à subir des forces de répulsion. Cette zone est représentée à la figure 1.14.



**Figure 1.14** Courbe de force représentant l'interaction entre les atomes d'une pointe et d'une surface en microscopie à force atomique.

La déflexion de la lumière réfléchie sur une pointe est mesurée par un photodétecteur à quatre quadrants sensible à la position (figure 1.15).<sup>24</sup>



**Figure 1.15** Principe de détection d'un photodétecteur à quatre quadrants. (A) Torsion; (B) déflexion.

La mesure de la déflexion du microlevier permet d'obtenir le relief de la surface (image topographique). La déflexion est obtenue par la

variation de la position verticale du laser sur le photodétecteur, qui est donnée par la variation des photo-courants ( $\Delta I_{\text{vertical}}$ ) sur les quadrants :

$$\Delta I_{\text{vertical}} = (I_B + I_A) - (I_D + I_C) \quad (11)$$

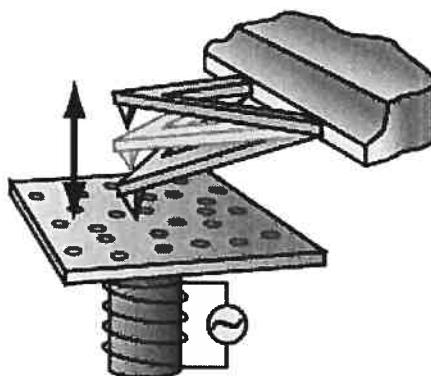
La déflexion due à la torsion du microlevier permet d'obtenir une image de la surface dite « image en friction ». Ainsi, les forces de friction mesurées dépendent de la constante de force de torsion (valeur typique entre 1 et 500 N/m)<sup>23</sup> du microlevier. Ce type de mesure donne de l'information sur la composition chimique d'une surface à une échelle nanométrique. La torsion du microlevier est évaluée par la variation horizontale de la position du laser sur le photodétecteur qui est donnée par la variation des photo-courants ( $\Delta I_{\text{horizontal}}$ ) :

$$\Delta I_{\text{horizontal}} = (I_B + I_D) - (I_A + I_C) \quad (12)$$

### 1.6.2 Mode Mac

Le mode magnétique AC (« MacMode ») est une technique d'AFM dans laquelle un microlevier magnétique oscille sous l'effet d'un champ magnétique.<sup>25</sup> Ce dernier est obtenu par le passage d'un courant alternatif (AC) dans un solénoïde. Ce champ magnétique permet de faire osciller le microlevier à très haute fréquence (kHz). L'avantage d'utiliser un champ magnétique est qu'il n'est plus nécessaire d'agiter le support du microlevier, éliminant de ce fait beaucoup du bruit de fond. À travers un meilleur ratio signal/bruit de fond, l'amplitude utilisée lors de l'acquisition d'images peut être inférieure à celle utilisée en mode de tapotement (« Tapping Mode »). Cela diminue les dommages qui pourraient être causés à l'échantillon et à la pointe. De plus, l'interaction de la pointe avec l'échantillon est principalement dirigée verticalement, ce qui limite grandement la dégradation de l'échantillon

souvent observée en mode contact. Ainsi, le MacMode est une technique beaucoup plus douce que le mode contact, permettant d'imager des surfaces organiques molles. Un schéma démontrant le fonctionnement du MacMode est présenté à la figure 1.16.



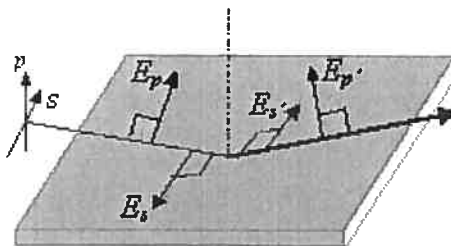
**Figure 1.16** Illustration de la technique MacMode. Reproduction à partir de la référence 25.

En MacMode, l'image topographique est obtenue en enregistrant le changement d'amplitude du microlevier. Lorsque la pointe entre en contact avec la surface, l'amplitude est réduite. Le tube piezoélectrique sur lequel repose le microlevier compense cette réduction en augmentant la distance entre la pointe et la surface.

De l'information qualitative concernant les propriétés de la surfaces peut être obtenue en enregistrant le changement de phase entre le signal détecté (oscillation du microlevier) et le signal du courant AC produisant le champ magnétique. Ainsi de l'information sur la composition chimique des surfaces peut être obtenue avec la technique MacMode.

## 1.7 Spectroscopie infrarouge de réflexion absorption à modulation de polarisation (PM-IRRAS)

La technique PM-IRRAS<sup>26</sup> est grandement utilisée aujourd'hui grâce aux travaux de Greenler, qui a développé la technique IRRAS dans les années soixante. En IRRAS, la radiation polarisée dans le plan -p est utilisée à grand angle d'incidence afin d'étudier des films déposés sur une surface métallique et réfléchissante. L'avantage d'utiliser la réflexion sur une surface métallique provient du fait que le champ électrique ( $E_p$ ) de la radiation -p est augmenté tandis que le champ électrique ( $E_s$ ) de la radiation du plan -s est quasiment anihilé (figure 1.17).



**Figure 1.17** Composantes du champ électrique du faisceau incident et réfléchi sur une surface métallique.

Ainsi seulement les bandes d'absorption vibrationnelle possédant un moment de transition dipolaire perpendiculaire à la surface subiront l'effet de l'augmentation du champ électrique de la radiation.

Un spectre d'absorption en IRRAS est obtenu en mesurant la réflectivité de la radiation -p ( $R_p$ ). Un spectre d'absorption en IRRAS d'un film mince adsorbé sur une surface métallique est obtenu après avoir normalisé la réflectivité enregistrée du film ( $R_p(d)$ ) par celle de la surface métallique propre ( $R_p(0)$ ). Pour les films dont l'épaisseur est inférieure à 100 Å (i.e. films très minces), le temps nécessaire pour obtenir un rapport signal/bruit qui soit acceptable est très long. Durant ce laps de temps (quelques heures), les paramètres expérimentaux lors de l'enregistrement du spectre du film et ceux enregistrés pour la

surface métallique propre sont différents. Le spectre IRRAS qui en résulte est de moins bonne qualité.

Afin de contourner ce désavantage, Golden et al.<sup>27</sup> ont combiné les conditions expérimentales de l'IRRAS avec une modulation rapide entre l'état de polarisation  $-s$  et  $-p$  de la radiation incidente à l'aide d'un modulateur photoélastique (PM-IRRAS).

La première étape dans l'acquisition d'un spectre PM-IRRAS est l'obtention des interférogrammes  $(R_p + R_s)$  et  $(R_p - R_s)J_2(\Phi_0)$  ou  $J_2(\Phi_0)$  est la fonction de Bessel qui ne dépend que du modulateur photoélastique. Ces spectres représentent des moyennes obtenues sur plusieurs mesures. Après avoir calculé leurs transformés de Fourier, les spectres caractéristiques de  $(R_p + R_s)$  et  $(R_p - R_s)J_2(\Phi_0)$  sont obtenus et le ratio de ces deux est calculé. Le spectre PM-IRRAS obtenu en normalisant le ratio par une fonction de Bessel simulée, est représenté par l'équation 10.

$$\Delta R_f / R = (R_p(d) - R_s(d)) / (R_p(d) + R_s(d)) \quad (13)$$

Les spectres obtenues par cette technique ne nécessitent donc plus l'enregistrement d'un spectre de référence. Puisque la radiation  $-s$  est quasiment nulle, elle ne mène donc à aucune bande d'absorption de surface. L'enregistrement simultané de la réflectivité  $R_p$  et  $R_s$  permet de différencier les bandes d'absorption de surface des fortes bandes d'absorption isotropique qui se trouvent plus loin de la surface dans l'échantillon. Ainsi, le PM-IRRAS conserve l'avantage de l'IRRAS concernant l'augmentation du champ électrique de la radiation  $-p$  près de la surface (qui amène une sélectivité dans les bandes d'absorption de surface)<sup>28</sup>, en plus de permettre une plus grande sensibilité envers les bandes d'absorption de surface.



## 1.8 Objectifs des travaux de recherche

L'objectif principal de la recherche effectuée dans le cadre de ce mémoire est de déterminer s'il est possible d'augmenter l'affinité de la HSA pour une monocouche mixte de *n*-alcanethiols à courtes et longues chaînes en favorisant des interactions spécifiques avec les poches hydrophobes de la HSA. Le deuxième objectif est de comparer deux techniques de déposition d'alcanethiols sur des surfaces d'or, soit la déposition passive et la déposition électrochimique.

Afin d'atteindre ces objectifs, les monocouches mixtes sont d'abord caractérisées pour cibler les facteurs qui influencent l'adsorption de la HSA. Les monocouches sont caractérisées en fonction de leur épaisseur, morphologie, ordre (ou désordre) et composition. Ensuite des études comparatives de l'adsorption et de la désorption de HSA sont menées afin de déterminer le degré d'affinité de la protéine pour les monocouches de différentes compositions.

Ce mémoire est présenté sous trois principaux chapitres. Le chapitre 1 a résumé la littérature connue sur le sujet ainsi que les notions théoriques et les considérations expérimentales des techniques de surface employées. Le chapitre 2 donne une description détaillée des produits, instruments et méthodes utilisés lors des travaux de recherche. Les résultats sont divisés en deux sous-sections (chapitre 3). La première sous-section est reliée à la caractérisation des monocouches auto-assemblées et la deuxième à l'adsorption et désorption de la HSA. Des conclusions générales sont données au quatrième chapitre.

## 1.9 Références

- (1) Lyman, D. J.; Metcalf, L. C.; Albo, D.; Richards, K. F., *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* **1974**, 20-B, 474.
- (2) Choi, E. J.; Foster, M. D., *Langmuir* **2002**, 18, 557.
- (3) Petrash, S.; Cregger, T.; Zhao, B.; Pokidysheva, E., *Langmuir* **2001**, 17, 7645.
- (4) Lyman, D. J.; Knutson, K.; McNeill, B.; Shibatani, K., *Trans. Amer. Soc. Artif. Int. Organs* **1975**, 1975, 49.
- (5) Choi, E. J.; Foster, M. D.; Daly, S.; Tilton, R.; Przybycien, T., *Langmuir* **2003**, 19, 5464.
- (6) Kidoaki, S.; Matsuda, T., *Langmuir* **1999**, 15, 7639.
- (7) Fang, J.; Knobler, C. M., *Langmuir* **1996**, 12, 1368.
- (8) Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y.-T.; Evall, J.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 111, 321.
- (9) Badia, A. Structure and Dynamics in Alkylthiols/Gold Monolayers. Thèse de doctorat, Université McGill, 1996.
- (10) <http://www.ifm.liu.se/Appphys/fir/sams.html>. (Isak Engquist, 1996-10-09)
- (11) Bain, C. D.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, 111, 7164.
- (12) Curry, S.; Mandelkow, H.; Brick, P.; Franks, N., *Nature* **1998**, 5, 827.
- (13) He, X. M.; Carter, D. C., *Nature* **1992**, 358, 209.
- (14) Curry, S.; Brick, P.; Franks, N. P., *Biochim. Biophys. Acta* **1999**, 1441, 131.
- (15) Ritchie, R. H., *Phys. Rev.* **1957**, 106, 874.
- (16) Powell, C. J., Swan, J.B., *Phys. Rev.* **1960**, 118, 640.
- (17) Otto, A., *Z. Phys.* **1968**, 216, 398.
- (18) Davies, J., *Nanobiology* **1994**, 3, 5.
- (19) Stern, E. A.; Ferrell, R. A., *Phys. Rev.* **1960**, 120, 130.
- (20) Kretschmann, E., *Z. Phys.* **1974**, 241, 313.

- (21) <http://www.jawoollam.com/Tutorial/Index.html>. (J. A. Woolam. Co., 2004)
- (22) Binnig, G., Quate, C.H., Rohrer, H., Gerber, Ch., *Phys. Rev. Lett.* **1986**, *56*, 930.
- (23) Takano, H.; Kenseth, J. R.; Wong, S.-S.; O'Brien, J. C.; Porter, M., *Chem. Rev.* **1999**, *99*, 2845.
- (24) Ducker, W. A.; Cook, R. F.; Clarke, D. R., *J. Appl. Phys.* **1990**, *67*, 4045.
- (25) <http://www.molec.com/>. (Molecular Imaging, 2003)
- (26) <http://www.biophyresearch.com/pdf/pmirras.pdf>. (BIOPHY Research S.A., **12/02/2004**)
- (27) Golden, W. G.; Saperstein, D. D., *J. Phys. Chem.* **1984**, *88*, 574.
- (28) Buffeteau, B.; Desbat, J. M. T., *Appl. Spect.* **1991**, *45*, 380.

## Chapitre 2

### Partie expérimentale

#### 2.1 Matériel

Le 1-bromodocosane (96%, Aldrich) a été purifié par chromatographie sur gel de silice (avec hexane comme éluant) pour donner le bromoalcane désiré comme solide blanc. La pureté du bromodocosane a été confirmée par chromatographie sur couche mince et par RMN  $^1\text{H}$ .

Le thiourée (99%, Riedel-deltaën) et le perchlorate de lithium (95%, Aldrich) employés dans la synthèse du 1-docosanethiol ont été utilisés sans autre modification.

Les autres thiols ont été achetés : 1-octadécaneethiol (98%, Aldrich), 1-pentadécaneethiol (98%, Aldrich), 1-tétradécaneethiol (98%, Fluka), 1-dodécaneethiol (98%, Fluka), le 1-undécaneethiol (98%, Aldrich) et le 1-octaneethiol (98,5%, Aldrich).

La sérum-albumine humaine (99%, 0.005% d'acide gras, Sigma), les pastilles de tampon de phosphate salin (0.01 M tampon phosphate, 0.0027 M KCl, 0.0137 M NaCl, pH 7.4, Sigma) et le sodium dodécyl sulfate (SDS, Sigma) ont été utilisés sans autre modification.

L'eau utilisée ( $18 \text{ M}\Omega \times \text{cm}$ ) dans toutes les expériences a été purifiée et déionisée avec un système Milli-Q (Millipore). L'isooctane (98%, Aldrich) a été employé pour la préparation des solutions de thiols utilisées pour la déposition passive. Le tétrahydrofurane (>99.9%, Produits Chimiques Américains LTÉE) et l'éthanol anhydre (99%, Les Alcools de Commerce Inc.) ont été employés pour la préparation des solutions de thiols utilisées pour la déposition électrochimique.

## 2.2 Synthèse du 1-docosanethiol à partir du 1-bromodocosane<sup>1</sup>

À une solution de 17.5 ml d'eau dans 332.5 ml d'éthanol à température de la pièce, on ajoute 3.50 g (8.99 mmol) du 1-bromodocosane purifié et 0.70 g (9.17 mmol) de thiourée. Le mélange est porté à reflux pendant 12 heures. Le mélange est refroidi à 0 °C sous atmosphère d'azote pendant 15 min. Au mélange, sont ajoutés 13.5 ml (26.97 mmol) d'une solution froide de NaOH 2 M. Le mélange réactionnel est ensuite amené à reflux pendant 3 heures sous atmosphère d'azote.

Dans un erlenmeyer de 1 L, sont ajoutés 30 ml d'une solution HCl 2 M, 150 ml d'hexane, 150 ml d'eau et le mélange réactionnel. Le pH de la phase aqueuse est ajusté à pH 2 avec du HCl dilué. Le mélange biphasique est filtré. La phase organique est séparée de celle aqueuse et la phase aqueuse est extraite avec 2 portions de 150 ml d'hexane. Les phases organiques sont combinées et ensuite lavée avec 150 ml d'eau, séchée avec du MgSO<sub>4</sub> et concentrée sous pression réduite.

Le produit brut est purifié par recristallisation dans un mélange de CHCl<sub>3</sub>/MeOH pour donner 1.14 g de l'alcanethiol désiré comme solide blanc odorant. RMN (<sup>1</sup>H, 300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) : 0.8-0.9 (t, -CH<sub>3</sub>), 1.1-1.4 (s, -(CH<sub>2</sub>)<sub>19</sub>, t, -SH), 1.5-1.7 (m, -CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SH), 2.5-2.6 (q, -CH<sub>2</sub>SH). Point de fusion: 46-47°C.

## 2.3 Préparation des surfaces d'or

Des lames de verre LaSFN<sub>9</sub> (Hellma-Optik GmbH) sont nettoyées par sonication pendant 5 minutes dans, successivement, une solution aqueuse de Helmanex 2% (Hellma Canada), de l'eau purifiée et de l'éthanol absolue. Les lames de verre sont ensuite utilisées pour la déposition d'or.

Des films d'or (99,99%, Plasmaterials) de 50 à 55 nm d'épaisseur sont déposés sous pression réduite ( $\sim 10^{-6}$  torr) sur les lames de verre

préalablement nettoyées, à l'aide d'un évaporateur thermique (Modèle VE90, Thermionics Laboratory Inc.). Cet évaporateur possède une pompe primaire mécanique à ailettes et une pompe turbomoléculaire permettant un plus grand vide. La vitesse de déposition de l'or est contrôlée à 1.2 Å/s par une microbalance à cristal de quartz. Les lames d'or sont conservées dans de l'éthanol anhydre 99% jusqu'à leur utilisation.

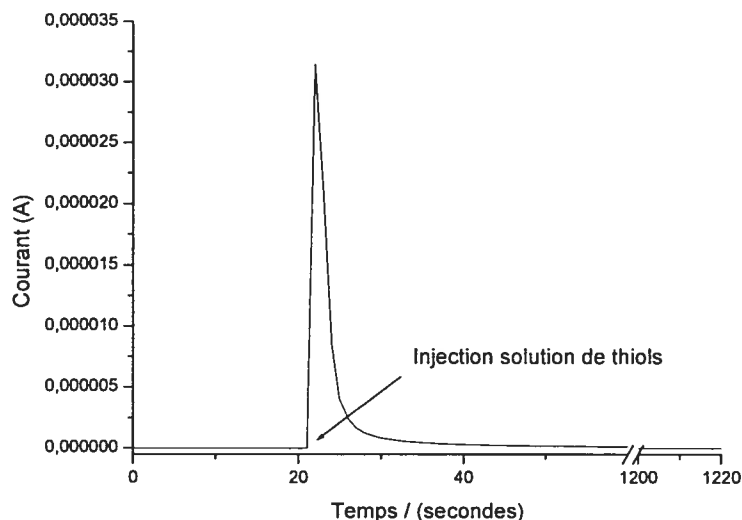
## 2.4 Préparation des monocouches auto-assemblées

### 2.4.1 Méthode de déposition passive

Les plaquettes d'or sont déposées dans des solutions de thiols 1 mM dans l'isooctane. La déposition s'effectue sur une période de 4 heures dans une cellule SPR ou dans un bécher.

### 2.4.2 Méthode de déposition électrochimique

La déposition électrochimique s'effectue à potentiel constant à l'aide d'un potentiostat (Solartron SI 1287). Une cellule à trois électrodes où le substrat d'or est l'électrode de travail, un fil de platine est l'électrode auxiliaire et une électrode Ag/AgCl (3 M NaCl saturé) est l'électrode de référence. La surface d'or exposée est d'environ 3 cm<sup>2</sup>. La cellule électrochimique est remplie au trois quart de son volume total avec une solution électrolyte constituée de 20% THF/80% éthanol et 1 mM de LiClO<sub>4</sub>. Un potentiel de 0.20 V par rapport à l'électrode Ag/AgCl est appliqué et après environ 10 à 20 secondes, une solution de thiols 4 mM dans la solution électrolyte est injectée dans la cellule. La déposition est effectuée à 200 mV pendant 20 min. La figure 2.1 permet de visualiser la fluctuation du courant sous potentiel constant lors de la déposition d'une monocouche mixte de thiols.



**Figure 2.1** Cinétique d'adsorption de thiols sur l'or sous un potentiel appliqué de 0.20 V (vs. Ag/AgCl). Solution de thiols :  $C_{12}SH/C_{22}SH = 4$ .

L'augmentation subite du courant lors de l'injection de la solution de thiols est causé par l'oxydation de ces derniers sur l'électrode de travail (surface d'or).

Une fois la déposition terminée, la monocouche est abondamment rincée avec du THF, de l'éthanol et enfin de l'eau. Les substrats sont ensuite entreposés dans l'eau pendant 4 heures.

## 2.5 Adsorption et désorption de la HSA sur les monocouches auto-assemblées

### 2.5.1 Adsorption de HSA

Les lames contenant les monocouches auto-assemblées sont déposées dans un récipient contenant un volume d'une solution tampon de phosphate salin pH 7.4. L'adsorption s'effectue en ajoutant un volume équivalent d'une solution de 0.2 mg/ml de HSA dans la solution tampon de phosphate. L'incubation se poursuit pendant une heure à température de la pièce.

Le récipient contenant les substrats est rincé avec 3 volumes équivalents de la solution tampon et 6 volumes équivalents d'eau purifiée. Les plaques sont séchées à l'azote. Le rinçage à l'eau permet d'enlever les sels de phosphate qui pourraient rester sur la surface des monocouches après le séchage et ainsi compliquer l'analyse par AFM.

Dans le cas où une expérience de désorption de HSA doit être effectuée, les lames sont tout simplement rincées avec 10 volumes équivalents de la solution tampon.

### 2.5.2 Désorption de HSA

Au récipient contenant les monocouches ayant été préalablement incubées dans une solution de HSA, trois volumes équivalents d'une solution de SDS 1% dans du tampon de phosphate sont ajoutés. L'incubation dans la solution de SDS se poursuit pendant 1 heure. Les surfaces des monocouches sont ensuite rincées avec 3 volumes équivalents de la solution tampon et 10 volumes équivalents d'eau. Chaque substrat est ensuite retiré du récipient d'incubation et plongé immédiatement dans un récipient d'eau purifiée pendant 5 secondes. Le substrat est retiré et séché à l'azote.

### 2.5.3 Étude par SPR de l'adsorption et de la désorption de HSA

Les méthodes d'adsorption et de désorption de la HSA décrites ci-haut s'appliquent pour la préparation d'échantillons utilisés pour les mesures d'ellipsométrie, de PM-IRRAS et d'AFM. Dans le cas de la SPR, les analyses s'effectuent en milieu aqueux (de façon in-situ) et ne nécessitent pas d'étape de séchage. Un volume de 10 ml d'une solution de HSA 0.1 mg/ml dans la solution tampon de phosphate pH 7.4 est injecté dans la cellule liquide du spectromètre. L'adsorption se poursuit pendant une heure. La surface de la monocouche est ensuite rincée avec

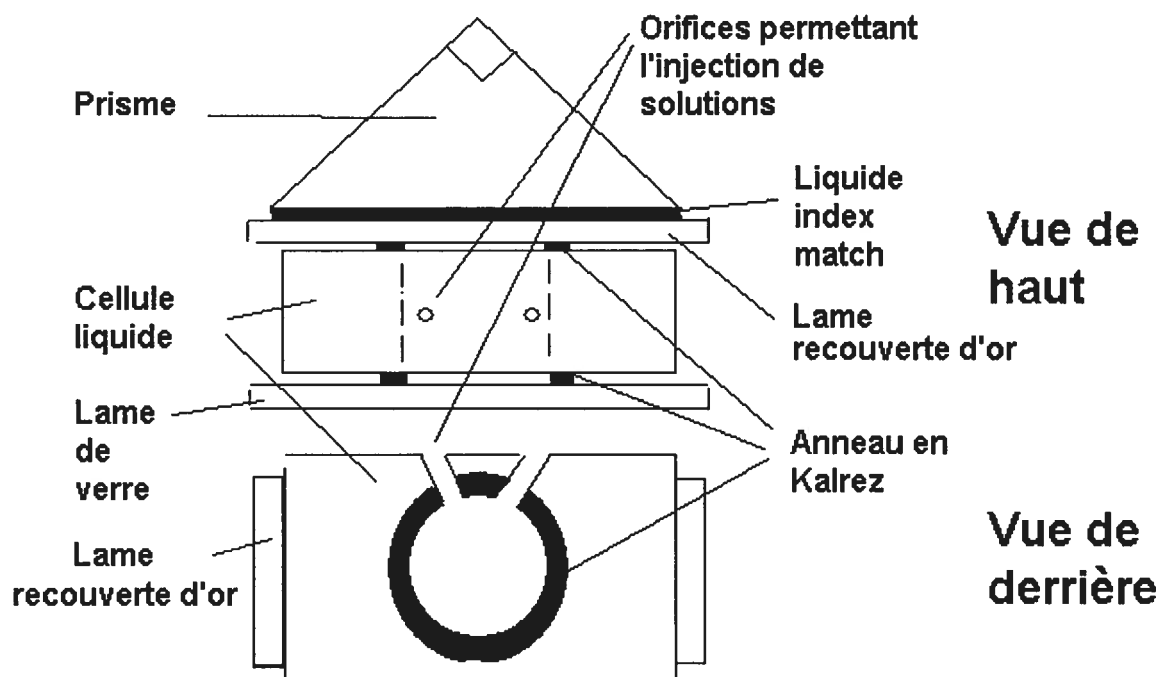


10 ml de solution tampon (i.e. 10x le volume de la cellule) à un débit contrôlé de 50 ml/h. Après avoir mesuré l'épaisseur de HSA adsorbée, 5 ml de la solution de SDS 1% sont injectés à 100 ml/h. L'injection de la solution de SDS 1% se poursuit pendant une heure à un débit réduit de 50 ml/h. La surface de la monocouche est ensuite rincée avec 30 ml de solution tampon à un débit de 350 ml/h. Un temps d'environ 30 à 40 minutes est nécessaire pour permettre au système d'atteindre l'équilibre.

## 2.6 Technique SPR

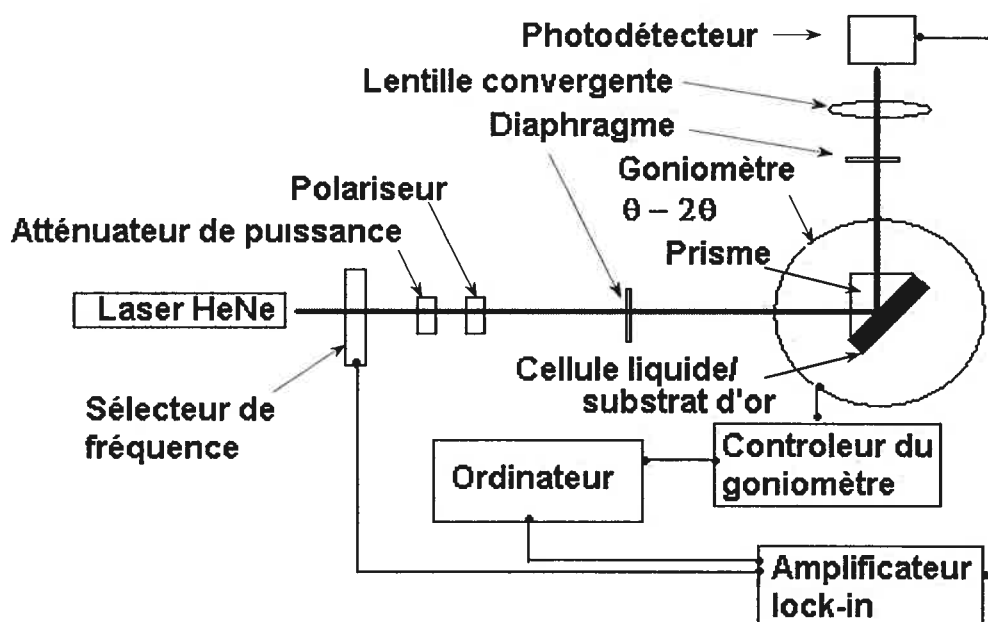
### 2.6.1 Appareil

Le spectromètre de résonance des plasmons de surface (Resonant Probes GmbH) est composé d'un laser HeNe (JDS Uniphase) de longueur d'onde de 632.8 nm et de puissance de 5 mW. Le faisceau laser passe par un interrupteur de faisceau (Perkin Elmer Instruments, Modèle 651.1) fixé à une fréquence de 1007 Hz et relié à un amplificateur lock-in (Modèle 5210, EG&G). Le faisceau passe ensuite par un atténuateur de puissance (Owis) et polarisé en -p par un polariseur de type Glan-Thompson. Un premier diaphragme (Owis) permet d'aligner le faisceau incident sur la cellule d'analyse. Cette cellule est montée sur un goniomètre  $\theta$ -2 $\theta$  (Huber) permettant des variations d'angle de 0.01°. La cellule d'analyse est constituée d'un prisme de LaSFN<sub>9</sub> ( $n_{632.8\text{nm}} = 1.845$ , Hellma-Optik) de géométrie 45°-45°-90° installé sur un cellule liquide en Téflon. Une fenêtre de verre est installée sous la cellule permettant ainsi d'aligner le laser et d'observer la surface analysée. Un schéma de la cellule est présenté à la figure 2.2.



**Figure 2.2** Schéma de la cellule utilisée pour les mesures d'adsorption et de désorption de HSA en SPR.

À la sortie de la cellule d'analyse, le faisceau passe par un diaphragme (Owis) utilisé pour l'alignement du laser et une lentille convergente (Owis) permettant de focaliser le faisceau sur le photodétecteur. Ce dernier, par l'intermédiaire de l'amplificateur « lock-in », capte seulement le signal ayant une fréquence de 1007 Hz, soit celui provenant du laser. Un schéma de l'arrangement des principales composantes est présenté à la figure 2.3.



**Figure 2.3** Schéma des principales composantes du spectromètre utilisé pour les mesures SPR.

## 2.6.2 Acquisition des données et modélisation

Deux types de courbes sont fréquemment employées en SPR, soit les courbes de réflectivité angulaire et les courbes de l'angle de couplage des plasmons de surface ( $\theta_{spr}$ ) en fonction du temps.

Les courbes de réflectivité angulaire sont obtenues en mesurant l'intensité de la lumière en fonction de l'angle d'incidence. Ces courbes sont analysées par le modèle de Fresnel pour les multicouches. Un modèle pour quatre couche (prisme(1), or(2), monocouche d'alcanethiol(3) et le solvant(4)) <sup>4</sup> :

$$E_{or}(\theta)^2 / E_{oi}^2 = R[\theta_i, \lambda, \epsilon_1(\lambda), \epsilon_2(\lambda), d_2, \epsilon_3(\lambda), d_3, \epsilon_4(\lambda, T)] \quad (1)$$

- Où  $E_{or}$  = champ électromagnétique du faisceau réfléchi  
 $E_{oi}$  = champ électromagnétique (polarisé -p) constant du faisceau incident  
 $R[]$  = fonction de réflexion  
 $\theta_i$  = angle d'incidence  
 $\lambda$  = longueur d'onde du faisceau incident  
 $d$  = épaisseur de films  
 $\epsilon$  = constant diélectrique complexe

Les paramètres typiques suivants ont été utilisés :

**Tableau 2.1** Paramètres typiques utilisés dans le modèle de Fresnel pour les multicouches.

Couche	$\epsilon'$	$\epsilon''$	D (nm)
Prisme (LaSFN <sub>9</sub> )	3.4040 <sup>2</sup>	0	$\infty$
Or	-12.75 à -12.95	1.05 à 1.35	50-55
Monocouche d'alcanethiols	2.10 <sup>3,4</sup>	0	variable
HSA	1.96 <sup>5</sup>	0	variable
Tampon	1.77 à 1.78	0	$\infty$

Note.  $\epsilon'$  et  $\epsilon''$  sont les composantes réelle et imaginaire, respectivement, de la constante diélectrique complexe. Une valeur de 0 pour  $\epsilon''$  signifie que la couche n'adsorbe pas la lumière à 632.8 nm.

De l'information sur la cinétique d'adsorption est obtenue par les courbes de  $\theta_{\text{SPR}}$  en fonction du temps. Chacun des points de ce type de courbe est obtenu en mesurant la réflectivité de trois points près de l'angle de couplage des plasmons de surface. Ces trois points sont modélisés par une parabole dont le sommet est considéré comme l'angle de couplage des plasmons de surface. Il est bien de retenir que la SPR est sensible au changement d'indice de réfraction, d'épaisseur et de structure et que ces changements se reflètent par un changement dans l'angle de couplage des plasmons de surface. Pour les faibles changement d'angle ( $\Delta\theta$ ), il est possible d'utiliser cette approximation<sup>6</sup> :

$$\Delta\theta = 22,5 * n * d \quad (2)$$

où  $d$  = épaisseur du film adsorbé  
 $n$  = indice de réfraction

## 2.7 Technique PM-IRRAS

Les spectres PM-IRRAS ont été enregistrés avec un spectromètre FT-IR FTS-6000 de Bio-Rad en accumulant 2038 spectres avec une résolution de 4  $\text{cm}^{-1}$ . Les expériences sont réalisées à un angle d'incidence de  $80^\circ$ . Le faisceau passe vers le modulateur photoélastique constitué d'une fenêtre de ZnSe (Hidres) reliée à un modulateur de fréquence fixé à 1000 Hz, puis est dirigé sur une lentille convergente de ZnSe avant d'atteindre la surface d'or. Le faisceau réfléchi atteint une deuxième lentille de ZnSe convergente qui focalise le faisceau sur un détecteur cryogénique de mercure-cadmium-tellure (InfraRed Labs Inc.) refroidi à 77 K avec de l'azote liquide.

## 2.8 Ellipsométrie

### 2.8.1 Appareil

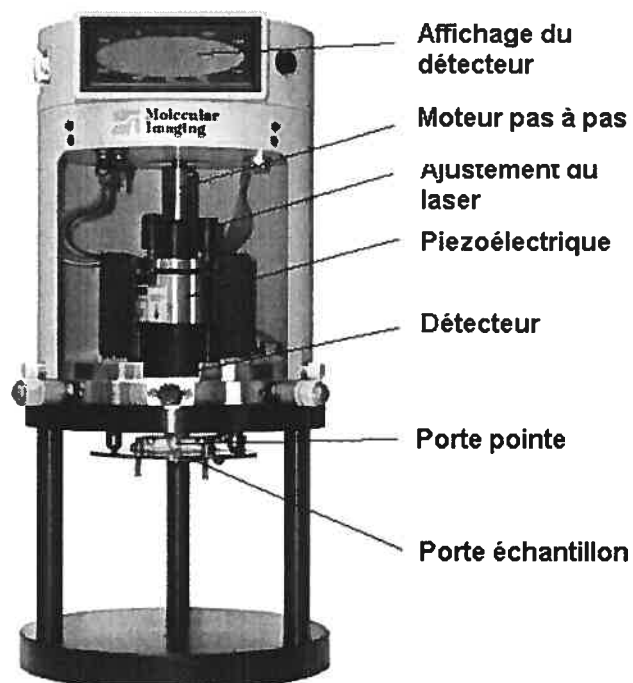
L'ellipsomètre utilisé est le M-2000 (J.A. Woollam Co., Inc). Cet ellipsomètre comprend un compensateur rotatif qui permet d'analyser rapidement les changements de phase ( $\Delta$ ) et de  $\psi$  ( $\varphi$ ). Le système possède une lampe halogène de tungsten-quartz (50 W) permettant l'analyse avec 390 longueurs d'onde différentes étalées sur un domaine spectral de 370 nm à 1000 nm. La source est alimentée par un module de tension M-2000V (J.A. Woollam Co., Inc) permettant une grande stabilité. Ce même module contient également le détecteur. La lumière réfléchie est envoyée au détecteur via une fibre optique. L'interface entre l'ordinateur et le M-2000V est assurée par le module EC-400 (J.A. Woollam Co., Inc). Ce module permet également de contrôler le convertisseur A/D (analog/digital) et le moteur pas à pas utilisé dans le compensateur. Le système et les données sont gérés par le logiciel WASE32 (version 3.435).

### 2.8.2 Modélisation

Les paramètres (indice de réfraction  $n$  et coefficient d'extinction  $k$ ) du film d'or sont obtenus par modélisation des données expérimentales. Les épaisseurs des monocouches sont obtenues avec le modèle de Cauchy. Les paramètres sont ajustés pour avoir une valeur de  $n = 1.45$  à  $632 \text{ nm}$ .<sup>7</sup> Les valeurs des paramètres Cauchy utilisés sont  $A_n = 1.44$ ,  $B_n = 0.0045$  et  $C_n = 0$ . Les couches de HSA sont modélisées de la même façon. Les valeurs des paramètres Cauchy pour la HSA sont ajustés de façon à obtenir une valeur de  $n = 1.40$ .<sup>5</sup> Une valeur typique de  $1.465$  pour l'indice de réfraction des protéines du sérum est suggérée par d'autres groupes.<sup>8,9</sup> Les valeurs des paramètres Cauchy pour la HSA sont  $A_n = 1.39$ ,  $B_n = 0.0045$  et  $C_n = 0$ .

## 2.9 AFM

Le système utilisé pour l'acquisition d'images est un microscope à force atomique PicoSPM (Molecular Imaging) contrôlé avec le système PicoScan. L'AFM est illustré à la figure 2.4.<sup>10</sup>



**Figure 2.4** Illustration du microscope à force atomique PicoSPM. La figure est reproduite de la référence <sup>10</sup>.

Le microscope est isolé des vibrations extérieures par une chambre d'isolation PicoIC (Molecular Imaging) permettant également une isolation acoustique d'au plus 12 dB (10 Hz à 100 kHz).

Les microleviers (MacLevers, Molecular Imaging) utilisés pour l'imagerie en mode « Mac » sont en silicium et recouverts d'une couche magnétique. La fréquence typique de résonance du microlevier est de 75 kHz, la constante de force est de 0.60 N/m, et le rayon de courbure est inférieur à 10 nm. Sauf si indiqué contrairement, toutes les images dans ce mémoire ont été obtenues en mode « Mac ».

## 2.10 Références

- (1) Badia, A., Structure and Dynamics in Alkylthiol/Gold Monolayers. Thèse de doctorat, Université McGill, 1996.
- (2) [www.us.schott.com](http://www.us.schott.com).(Schott, 2004)
- (3) Peterlinz, K. A.; Georgiadis, R., *Langmuir* **1996**, *12*, 4731.
- (4) Peterlinz, K. A.; Georgiadis, R., *Optics Comm.* **1996**, *130*, 260.
- (5) Picard, C.; Ladam, G.; Senger, B.; Voegel, J.-C.; Schaaf, P.; Cuisinier, F. J. G.; Gergely, C., *J. Chem. Phys.* **2001**, *115*, 1086.
- (6) Davies, J.; Faulkner, I. *Surface Plasmon Resonance- Theory and Experimental Consideration*; Butterworth-Heinemann, 1996.
- (7) Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y.-T.; Evall, J.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *111*, 321.
- (8) Arwin, H., *Appl. Spect.* **1986**, *40*, 313.
- (9) Höök, F.; Rodahl, M.; Vörös, J.; Kurrat, R.; Böni, P.; Ramsden, J. J., *Colloid Surface B* **2002**, *24*, 155.
- (10) <http://www.molec.com/>.(Molecular Imaging, 2003)



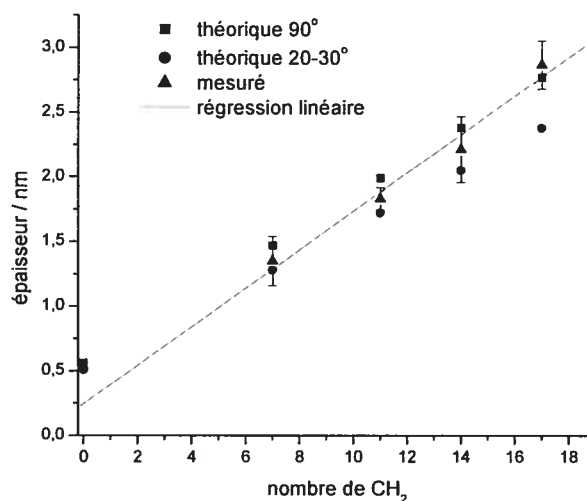
## Chapitre 3

### Résultats et discussion

#### 3.1 Calibration du spectromètre de résonance de plasmons de surface

##### 3.1.1 Mesures de l'épaisseur de monocouches en fonction de la longueur de la chaîne alcane

L'épaisseur de la monocouche adsorbée dépend du nombre de carbones du thiol et de la densité de chaîne.<sup>1-3</sup> Plus la densité est importante, plus les chaînes auront tendance à s'assembler perpendiculairement à la surface. Par contre, plus la densité de chaînes diminue, plus les chaînes seront inclinées vers leurs voisines. En comparant les valeurs d'épaisseur mesurées par résonance de plasmons de surface avec les valeurs théoriques<sup>4-5</sup>, on peut vérifier la réponse de notre appareil.



**Figure 3.1** Comparaison des épaisseurs de monocouches d'alcane thiols calculées et mesurées expérimentalement dans l'air.

Les épaisseurs de monocouches mesurées par SPR dans l'air en fonction du nombre de CH<sub>2</sub> sont comparées avec celles calculées à la figure 3.1. Une pente de 0.148 nm et une ordonnée à l'origine de 0.247

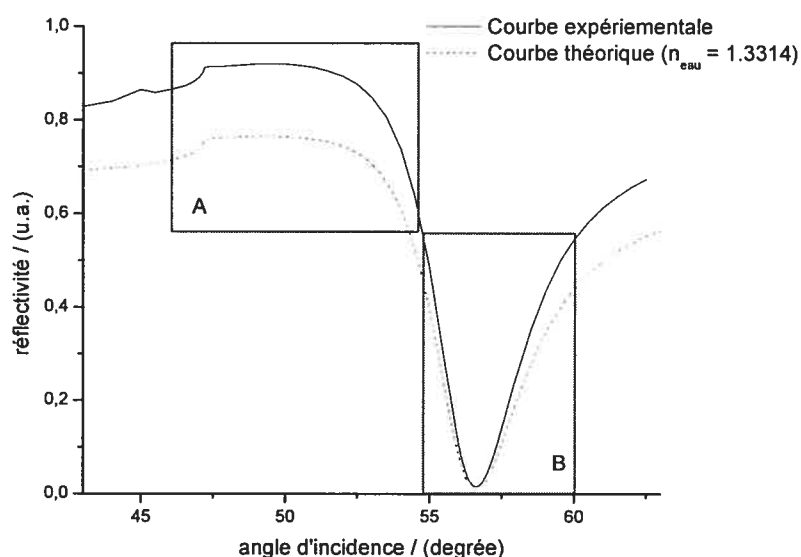
nm sont obtenus par régression linéaire des épaisseurs expérimentales. Ces résultats concordent en partie avec ceux obtenus par ellipsométrie par Allara et al.<sup>2</sup> (soit une pente de 0.15 nm/CH<sub>2</sub> et 0.38 nm pour l'ordonnée à l'origine. Whitesides et al.<sup>1</sup> ont obtenu 0.15 nm/CH<sub>2</sub> pour la pente et une ordonnée à l'origine de -0.19 nm. Les épaisseurs mesurées en SPR se situent entre les valeurs théoriques pour des monocouches dont les alcanethiols sont orientés perpendiculairement à la surface d'or et celles dont les thiols sont orientés à 20-30° par rapport à la normale.<sup>4</sup> Les valeurs calculées pour un assemblage de thiols alignés perpendiculairement à la surface et dont la configuration des CH<sub>2</sub> seraient tous trans sont de 0.13 nm/CH<sub>2</sub> pour la pente et de 0.56 nm pour l'ordonnée à l'origine.<sup>6</sup> L'ordonnée à l'origine correspond à l'épaisseur de CH<sub>3</sub>SH. Les valeurs calculées pour un alignement de 25° par rapport à la normale selon la structure de monocouche attendue sont de 0.11 nm/CH<sub>2</sub> pour la pente et de 0.51 nm pour l'ordonnée à l'origine.<sup>5</sup> Les résultats théoriques sont calculés à partir de données de rayons covalents et de van der Waals.

### 3.1.2 Effet de la température

Les plasmons de surfaces sont sensibles aux changements produits à proximité de la surface d'or. Cette technique est sensible au changement d'indice de réfraction du solvant en contact avec la monocouche, et donc à la température. Des petites fluctuations de température sont une source de bruit déterminante et d'erreur dans l'analyse par SPR.<sup>7</sup> Pour l'eau, le changement d'indice de réfraction est de 0.0001/°C près de 20 °C. Un contrôle de la température à moins de 1 degré près est donc nécessaire pour obtenir des mesures exactes et précises.

En mesurant la température lors d'une analyse SPR, on observe que la température fluctue durant le balayage d'angle d'incidence (figure

3.2). Les résultats sont présentés en partie au tableau 3.1. On observe que la température de l'eau diminue pour atteindre un minimum après l'angle de réflexion totale interne (ATR). Avant l'ATR (Région A, figure 3.2), le laser pénètre dans la cellule liquide (volume 1 ml) et l'énergie absorbée est dissipée sous forme de chaleur. Plus on s'approche de l'angle de réflexion total interne, plus la réflexion du laser augmente et moins d'énergie est envoyée dans la cellule. Cela provoque une baisse de la température de l'eau dans la cellule. Après l'ATR, la température atteint un minimum. À un certain angle d'incidence, le couplage entre les plasmons de surfaces et le laser incident entraîne une quantité d'énergie dans la cellule (région B, figure 3.2). La température grimpe alors pour diminuer ensuite passé l'angle de couplage.



**Figure 3.2** Courbe SPR pour une surface d'or en contact avec de l'eau purifiée.

**Tableau 3.1** Mesure de la température pendant un balayage d'angle d'incidence en SPR (figure 3.2).

Région	Température °C	Angle °
A	23.4	46.56
	23.2	47.20 (ATR)
	23.0	47.40
	22.9	49.00
	22.8	56.06
B	22.9	56.46
	-----	56.63 ( $\theta_{spr}$ )
	23.0	56.80
	23.1	57.60
	23.2	58.52
	23.2	63.02
	23.0	63.02 (2 h plus tard)

Avec la température obtenue à l'angle de réflexion totale interne, il est possible de calculer l'indice de réfraction de l'eau pour des températures variant de 13 °C à 31 °C en utilisant la relation empirique suivante<sup>8</sup>:

$$n_s - n_o = A(t - 20) + B(t - 20)^2 \quad (11)$$

où  $n_s$  = indice de réfraction de l'eau pure à la température  $t$

$n_o$  = indice de réfraction de l'eau pure à 20 °C

$t$  = température (°C)

$A$  =  $-8.5 \times 10^{-5}$

$B$  =  $1 \times 10^{-5}$

Ainsi, la valeur de l'indice de réfraction calculée avec la température mesurée est de 1.33147. Une valeur de 1.33142 est obtenue par modélisation de la courbe SPR (figure 3.2). Il y a donc une correspondance entre l'indice de réfraction théorique et expérimental. Le tableau 3.1 indique aussi que l'écart entre la température mesurée à l'angle de couplage des plasmons de surface et à l'ATR est d'au plus 0.3 degré. Cette erreur (0.00005) sur l'indice de réfraction mesuré amène une erreur inférieure à 0.2 nm sur l'épaisseur de la monocouche obtenue par modélisation de la courbe SPR.

La même expérience n'a pas été effectuée dans d'autres solvants, mais l'erreur devrait varier selon le solvant ou milieu utilisé puisque près de 20 °C, le changement d'indice de réfraction est de 0.0004/°C (632.8 nm),<sup>9</sup> 0.0005/°C ( $\lambda$  = 656 nm) et 0.000001/°C (650 nm)<sup>7</sup> pour l'éthanol, le 2,2,4-trimethylpentane et l'air respectivement.

### 3.1.3 Épaisseur de monocouches en fonction de l'indice de réfraction

Pour des films d'hydrocarbonés, des valeurs d'indice de réfraction de 1.40 à 1.50 sont généralement utilisées pour déterminer l'épaisseur en ellipsométrie ou SPR.<sup>1-3</sup> Afin de vérifier l'exactitude de l'indice de réfraction utilisé pour le calcul d'épaisseur, l'épaisseur de monocouches dans différents solvants polaires a été mesurée par SPR.<sup>9</sup> Le tableau 3.2 montre que l'on obtient des épaisseurs différentes dans l'eau et l'éthanol lorsqu'on utilise 1.50 comme indice de réfraction pour la monocouche d'alcanethiols. Le tableau 3.3 montre que les épaisseurs obtenues pour les mêmes monocouches en utilisant 1.45 comme indice de réfraction sont presque identiques. Cela confirme l'utilisation de 1.45 comme valeur de l'indice de réfraction pour les monocouches d'alcanethiols sur de l'or polycristallin. En utilisant deux longueurs d'onde différentes (633 nm et 543 nm) pour les mesures SPR, Georgiadis et al.<sup>9,10</sup> ont aussi obtenu une valeur d'indice de réfraction de 1.45.

**Tableau 3.2** Comparaison des épaisseurs de monocouches d'alcanethiols mesurées par SPR dans différents solvants pour un indice de réfraction de 1.50.

Nombre CH <sub>2</sub>	Air (nm)	Éthanol (nm)	Eau (nm)	Écart*
7	1,10	0,99	1.03	-0.04
11	1,71	1,78	1,99	0.21
14	2,06	2,48	2,88	0.40
17	2,65	2,87	3,17	0.30

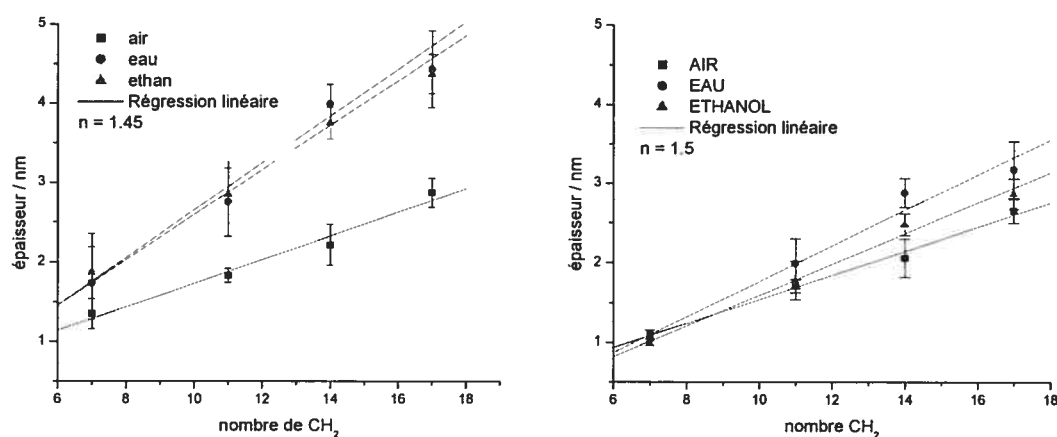
\* Différence entre l'épaisseur d'une monocouche mesurée dans l'eau et celle mesurée dans l'éthanol

**Tableau 3.3** Comparaison des épaisseurs de monocouches d'alcanethiols mesurées par SPR dans différents solvants pour un indice de réfraction de 1.45.

Nombre CH <sub>2</sub>	Air (nm)	Éthanol (nm)	Eau (nm)	Écart*
7	1,35	1,87	1,74	-0.13
11	1,83	2,85	2,75	-0.10
14	2,21	3,75	3,99	0.24
17	2,87	4,37	4,43	0.06

\* Différence entre l'épaisseur d'une monocouche mesurée dans l'eau et celle mesurée dans l'éthanol

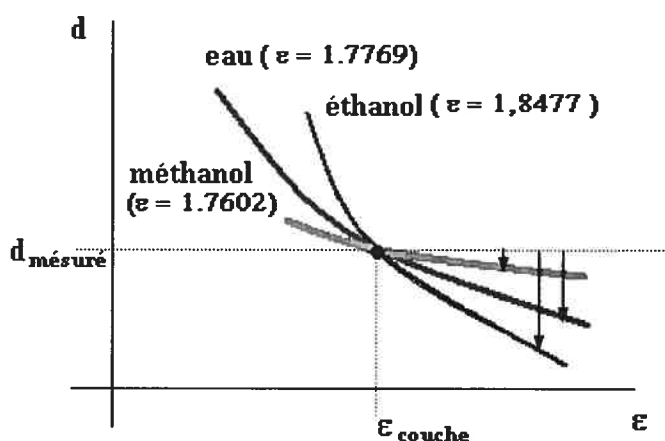
Les résultats des tableaux 3.2 et 3.3 sont représentés dans les graphiques de la figure 3.3. Puisque l'indice de réfraction effectif des monocouches est de 1,45 (pour les raisons mentionnées plus haut), il est normal d'observer une diminution de l'épaisseur mesurée lorsque l'on augmente l'indice de réfraction.



**Figure 3.3.** Comparaison des épaisseurs de monocouches de thiols mesurées par SPR dans différents solvants pour les indices de réfraction de 1,45 et 1,5.

De plus, en surestimant la valeur de l'indice de réfraction à  $n = 1,5$ , on s'attend à ce que la diminution de l'épaisseur mesurée dans le solvant ayant la constante diélectrique la plus élevée soit plus

importante (ce qui est obtenu pour la majorité des points).<sup>10</sup> Cette effet est représenté par la figure 3.4.



**Figure 3.4.** Effet du choix de la constante diélectrique ( $\epsilon$ ) de la monocouche et du solvant sur l'épaisseur mesurée. Les flèches tombantes représentent la variation de l'épaisseur mesurée lorsque l'on surestime la constante diélectrique.

Les courbes de la figure 3.4 se rencontrent en un point si la structure de la monocouche ne change pas lorsque l'on change le solvant. Cela explique l'écart entre les mesures effectuées dans l'air et celles effectuées dans l'éthanol et l'eau (figure 3.3).

## 3.2 Monocouches mixtes obtenues par déposition passive

### 3.2.1 Épaisseur des monocouches

Les épaisseurs mesurées par SPR pour les monocouches mixtes obtenues par adsorption passive d'un mélange binaire de docosanethiol ( $C_{22}SH$ ) et de dodécaneethiol ( $C_{12}SH$ ) sont présentées à la figure 3.5. Un rapport de  $C_{12}SH/C_{22}SH$  d'environ 2 en solution est nécessaire pour obtenir un rapport de  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 1 à la surface lorsque l'isooctane est utilisé comme solvant. Ce rapport est déterminé en considérant que l'épaisseur augmente linéairement avec l'augmentation de  $C_{22}SH$  à la surface. En effet, pour des mélanges idéals, la loi d'additivité permet de

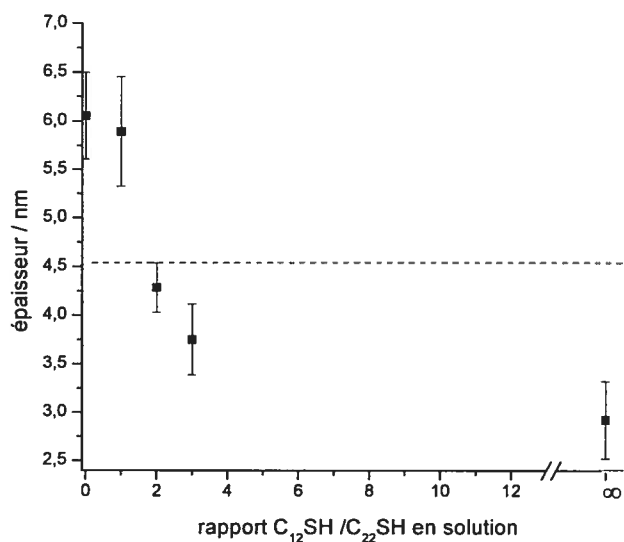
prévoir l'épaisseur attendue ( $d_{C_{12}SH/C_{22}SH}$ ) pour une monocouche mixte d'alcanethiols :

$$d_{C_{12}SH/C_{22}SH} = (X_{C_{12}SH} \cdot d_{C_{12}SH}) + (X_{C_{22}SH} \cdot d_{C_{22}SH}) \quad (12)$$

où  $X_{C_{12}SH}$  et  $X_{C_{22}SH}$  sont les fractions molaires de  $C_{12}SH$  et  $C_{22}SH$  dans la monocouche mixte.

$d_{C_{22}SH}$ ,  $d_{C_{12}SH}$  et  $d_{C_{12}SH/C_{22}SH}$  sont les épaisseurs pour les monocouches d'alcanethiols de  $C_{22}SH$ ,  $C_{12}SH$  et mixte de  $C_{12}SH / C_{22}SH$  respectivement.

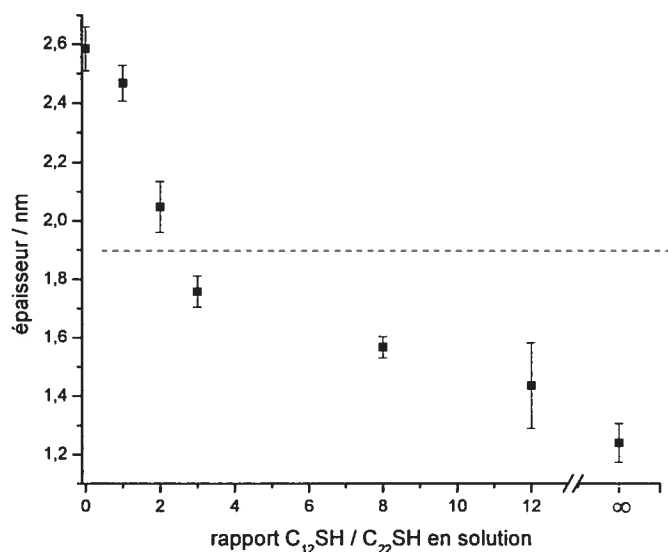
Whitesides et collaborateurs<sup>11</sup> ont obtenu des rapports  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution (isooctane) qui se situent entre 3 et 15 pour un rapport de surface de 1. Les épaisseurs de monocouches mesurées par SPR sont plus élevées que celles rapportées par Whitesides et al.<sup>11</sup> étant donné que les mesures en SPR sont prises en solution au lieu de l'air.



**Figure 3.5** Épaisseur de monocouche mixte de  $C_{12}SH$  et de  $C_{22}SH$  mesurée dans l'isooctane par SPR. Chaque point est une moyenne de mesures effectuées sur au moins 3 échantillons. La ligne en pointillée indique l'épaisseur correspondant à une monocouche de composition 1:1 (mol/mol)  $C_{12}SH/C_{22}SH$ .



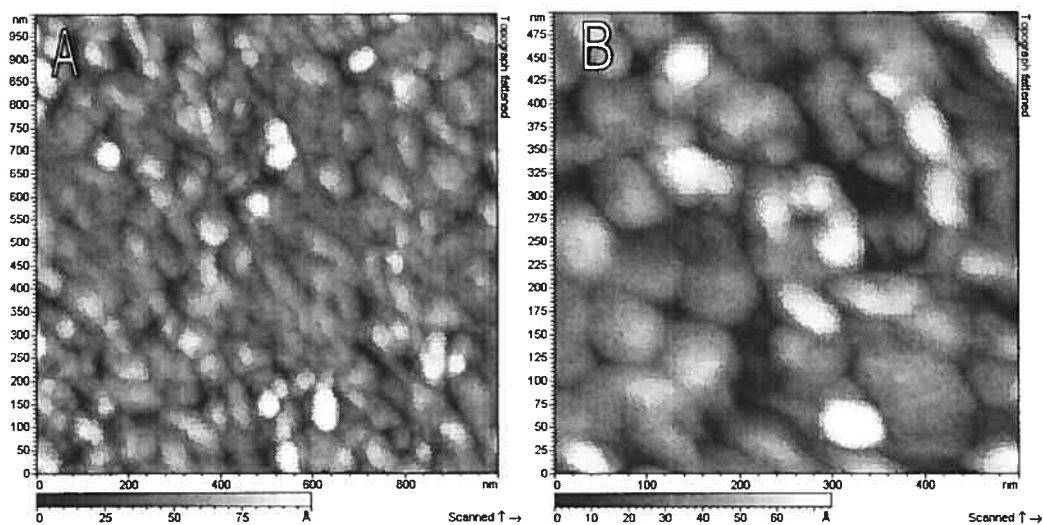
Les résultats des mesures effectuées avec un ellipsomètre sont présentées à la figure 3.6. Les épaisseurs de monocouches, étant mesurées dans l'air, sont inférieures à celles obtenues par SPR. La tendance observée reste la même, soit un rapport de  $C_{12}SH/C_{22}SH$  d'environ 2 en solution est nécessaire pour obtenir un rapport de  $C_{12}SH/C_{22}SH = 1$  à la surface.



**Figure 3.6** Épaisseur de monocouche mixte de  $C_{12}SH$  et de  $C_{22}SH$  mesurée dans l'air par ellipsométrie. Chaque point est une moyenne de 3 mesures effectuées sur au moins 3 échantillons différents. La ligne en pointillée indique l'épaisseur correspondant à une monocouche de composition 1 : 1 (mol/mol)  $C_{12}SH/C_{22}SH$

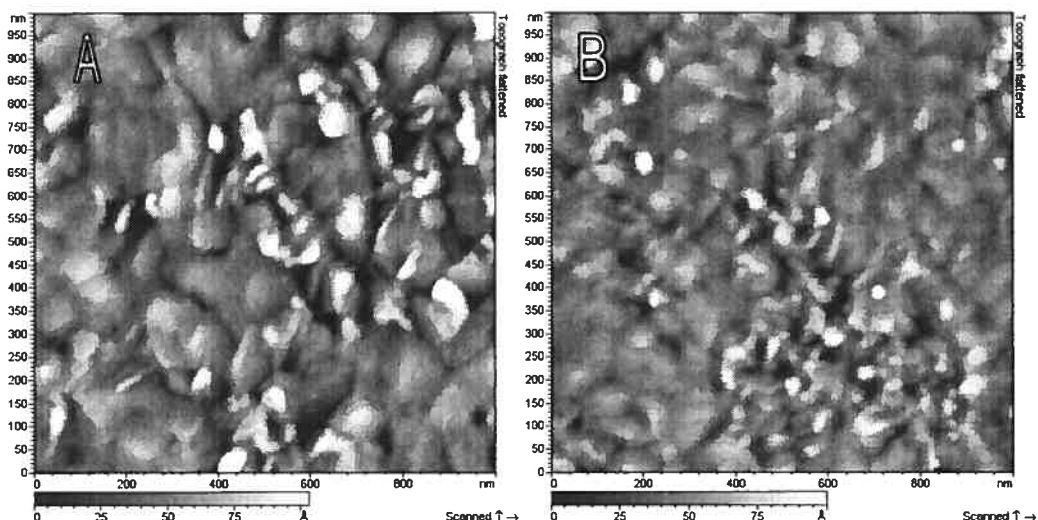
### 3.2.2 Morphologie des monocouches

Les monocouches ont été analysées par AFM. La figure 3.7 montre des surfaces d'or sur lesquelles sont adsorbés les alcanethiols. On observe que la surface n'est pas parfaitement plane, mais plutôt composée de grains dont les diamètres varient de 40 à 100 nm.<sup>12,13</sup>



**Figure 3.7** Images AFM obtenues dans l'air d'une surface d'or préparée par évaporation thermique de l'or sous pression réduite sur une lame de verre LaSFN<sub>9</sub>. (A) 1  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ; (B) 0.5  $\mu\text{m}$  x 0.5  $\mu\text{m}$ .

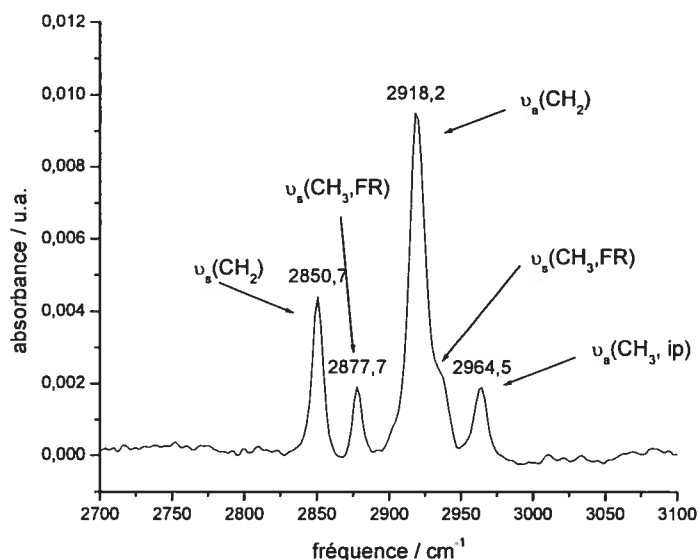
La figure 3.8 montre des images AFM de surfaces d'or modifiées avec des alcanethiols. La morphologie des surfaces d'or modifiées ressemble à celle des surfaces non-modifiées. Les images AFM suggèrent une adsorption homogène de thiols puisque des domaines isolés de thiols n'ont pas été observés (les analyses par SPR et ellipsométrie confirme l'adsorption de thiols sur la surface d'or). Une étude plus approfondie sur une plus petite échelle par microscopie à effet tunnel (STM) et sur une surface monocristalline plus plane permettrait de confirmer cette hypothèse.<sup>14</sup>



**Figure 3.8** Images AFM (1  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ) obtenues dans l'air. (A) ) monocouche obtenue à partir d'une solution d'alcanethiols de rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} = 1$ ; (B) monocouche obtenue à partir d'une solution d'alcanethiols de rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} = 3$ .

### 3.2.3 Caractérisation des monocouches par PM-IRRAS

Afin de déterminer la structure des diverses monocouches étudiées et de vérifier si une augmentation de désordre dans une monocouche peut être introduite suite à l'adsorption de thiols de longueurs de chaîne différentes, des analyses de surfaces ont été effectuées par PM-IRRAS.<sup>2</sup> Un exemple de spectre obtenu pour une monocouche mixte d'alcanethiols est présenté à la figure 3.9. La bande d'adsorption à  $2964.5\text{ cm}^{-1}$  est assignée à l'élongation CH asymétrique dans le plan d'un groupement  $\text{CH}_3$  ( $\nu_a(\text{CH}_3, \text{ip})$ ). Les bandes à  $2850.7\text{ cm}^{-1}$  et  $2918.2\text{ cm}^{-1}$  sont assignées aux élongations  $\text{CH}_2$  symétriques ( $\nu_s(\text{CH}_2)$ ) et asymétriques ( $\nu_a(\text{CH}_2)$ ) respectivement. L'épaule du pic à  $2918.2\text{ cm}^{-1}$  et le pic à  $2877.7\text{ cm}^{-1}$  sont assignés à l'élongation symétrique  $\text{CH}_3$  ( $\nu_s(\text{CH}_3, \text{FR})$ ). Ce dernier donne un doublet à cause des interactions avec la déformation asymétrique qui se trouvent à plus basse fréquence. Ce processus est nommé la résonance de Fermi.<sup>2,15</sup>



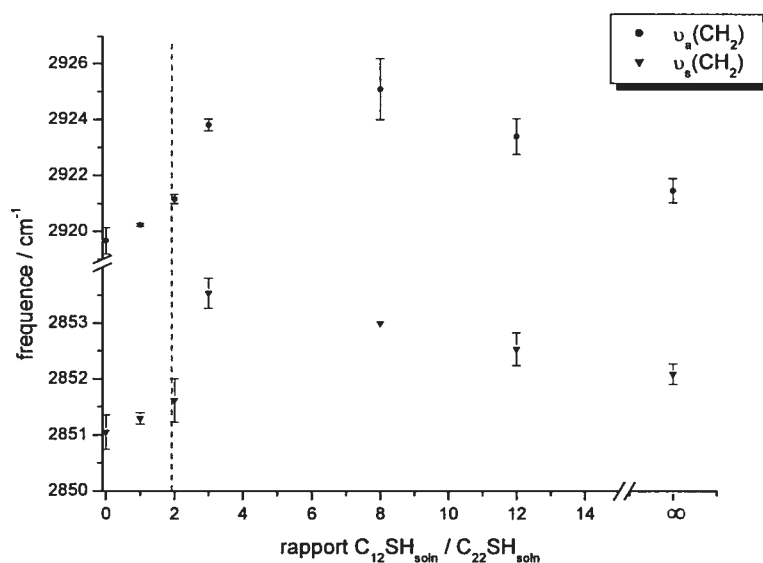
**Figure 3.9** Spectre PM-IRRAS d'une monocouche mixte d'alcanethiols sur or montrant les principales bandes de vibrations  $\text{CH}_2$  et  $\text{CH}_3$ .

Les modes d'élongation symétrique  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et antisymétrique  $\nu_a(\text{CH}_2)$  du groupement  $\text{CH}_2$  sont choisis puisque la position de ces bandes est sensible à la variation de désordre dans une monocouche.<sup>2</sup> La position des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  de monocouches mixtes en fonction du rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  est représentée à la figure 3.9.

Deux effets sont observés, soit l'augmentation de la fréquence d'absorption lorsque la longueur de chaîne diminue et l'augmentation de la fréquence d'absorption avec l'augmentation du nombre de chaînes libres dans la région externe de la monocouche (figure 1.3, cas B). Plus la longueur de la chaîne augmente, plus les interactions van der Waals entre les chaînes augmentent. Ces interactions permettent d'obtenir une monocouche plus ordonnée. Dans le cas de chaînes plus courtes, les interactions sont plus faibles et la monocouche obtenue est moins ordonnée. Plus les valeurs des positions des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  se rapprochent de  $2850\text{ cm}^{-1}$  et  $2918\text{ cm}^{-1}$ , respectivement, plus les

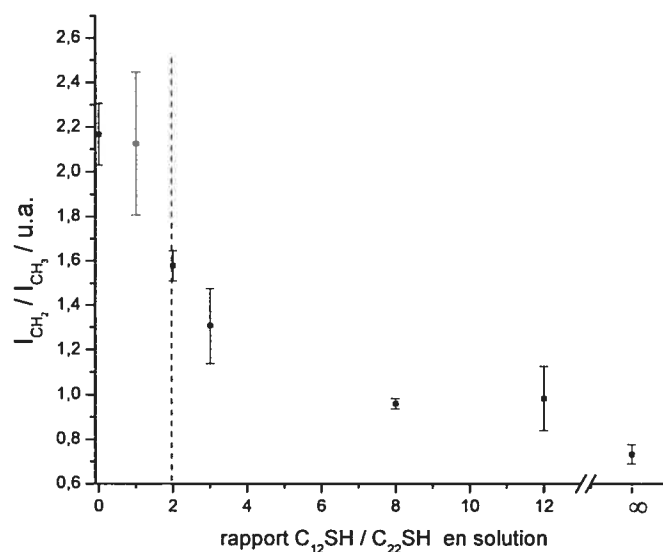
chaînes alcanes dans la monocouche sont ordonnées. L'effet de la longueur de chaîne sur la fréquence des modes d'oscillations des  $\text{CH}_2$  est représenté à la figure 3.10.

Dans le cas des monocouches mixtes, plus il y a de docosanethiol libre dans la région externe, plus celles-ci deviennent désordonnées. Se surcroît de désordre est observé par une augmentation de  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$ . Cette augmentation débute à un rapport de  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} \sim 2$  en solution et semble atteindre un maximum entre 3 et 8. Ceci est concordant avec les épaisseurs obtenues en SPR et ellipsométrie, soit le désordre augmente avec l'incorporation initial de  $\text{C}_{22}\text{SH}$  dans la monocouche de  $\text{C}_{12}\text{SH}$  et diminue ensuite lorsque la monocouche s'approche d'une monocouche ordonnée complète de  $\text{C}_{22}\text{SH}$ .



**Figure 3.10** Variation de la fréquence des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  observée pour des monocouches en fonction du rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  dans la solution d'isooctane pour une déposition passive. Chaque donnée est la moyenne d'un minimum de 3 mesures. La ligne en pointillée indique le rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution correspondant à un rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en surface de 1 (résultat obtenu par ellipsométrie).

En observant le ratio d'intensité des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_3)$ , on observe que la courbe obtenue (figure 3.11) est similaire à celles obtenues en SPR et en ellipsométrie. Malgré que le rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution correspond à un rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en surface obtenu en ellipsométrie, les mesures en PM-IRRAS ne permettent pas d'obtenir de valeurs quantitatives sur la composition de la monocouche à partir du rapport des intensités des bandes puisqu'aucune information n'est connue sur la variation de l'intensité des bandes en fonction de l'angle d'incidence du faisceau infrarouge.

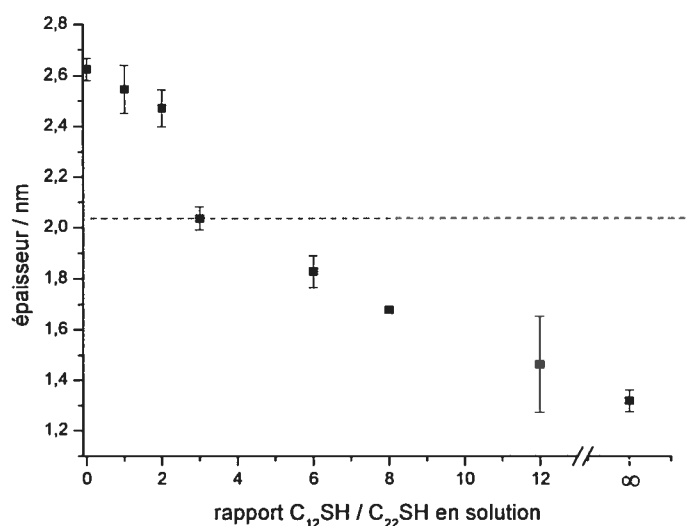


**Figure 3.11** Variation du rapport des intensités des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_3)$  avec la composition des thiols en solution pour des monocouches mixtes obtenues par déposition passive dans l'isooctane. La ligne en pointillée indique le rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution correspondant à un rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en surface de 1 (résultat obtenu par ellipsométrie).

### 3.3 Monocouches mixtes préparées par déposition électrochimique

#### 3.3.1 Épaisseur mesurée par ellipsométrie

Les épaisseurs des monocouches mixtes préparées par déposition électrochimique sont données à la figure 3.12. La variation de l'épaisseur de monocouche en fonction du rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution est plus graduelle que celle observée pour le cas de la déposition passive (figure 3.6). De plus, le rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution qui est nécessaire pour obtenir un rapport de surface  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 1 est supérieur à celui obtenu pour une déposition passive dans l'isooctane, soit environ 3.

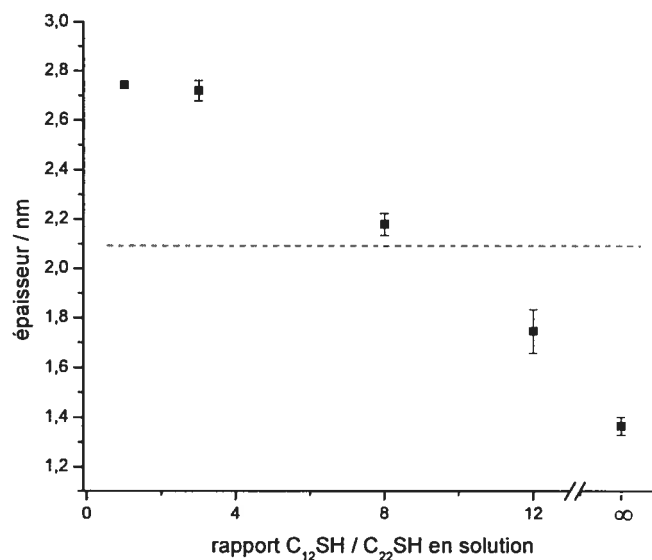


**Figure 3.12** Épaisseur mesurée par ellipsométrie pour différentes monocouches obtenues par déposition électrochimique. La ligne en pointillée indique l'épaisseur correspondant à une monocouche de composition 1:1 (mol/mol)  $C_{12}SH/C_{22}SH$ .

Pour vérifier l'effet de la déposition électrochimique sur la composition de thiols à la surface, les épaisseurs de monocouches préparées à partir des mêmes solutions éthanol-THF, mais sans contrôle électrochimique, ont aussi été mesurées. Les résultats sont présentés à la figure 3.13. On observe que pour un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution de 3, l'épaisseur de la monocouche obtenue est sensiblement la même que celle d'une monocouche de  $C_{22}SH$ . Donc le rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution nécessaire pour avoir un rapport de surface égale à 1 est beaucoup plus élevé sans contrôle électrochimique, soit un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH \sim 8$ . Ainsi, la déposition sous potentiel électrochimique favorise l'adsorption de  $C_{12}SH$ .

Il est à noter également que ce dernier rapport est également plus élevé que celui obtenu pour la déposition passive dans l'isooctane. Cela s'explique par le fait que l'adsorption passive de thiols de différentes longueurs de chaînes est contrôlée thermodynamiquement. Le thiol le moins soluble s'adsorbe préférentiellement à la surface. La différence de solubilité entre un  $C_{12}SH$  et un  $C_{22}SH$  étant plus faible dans l'isooctane que dans une solution éthanol-THF, l'adsorption préférentielle du  $C_{22}SH$  est plus importante dans la solution éthanol-THF.

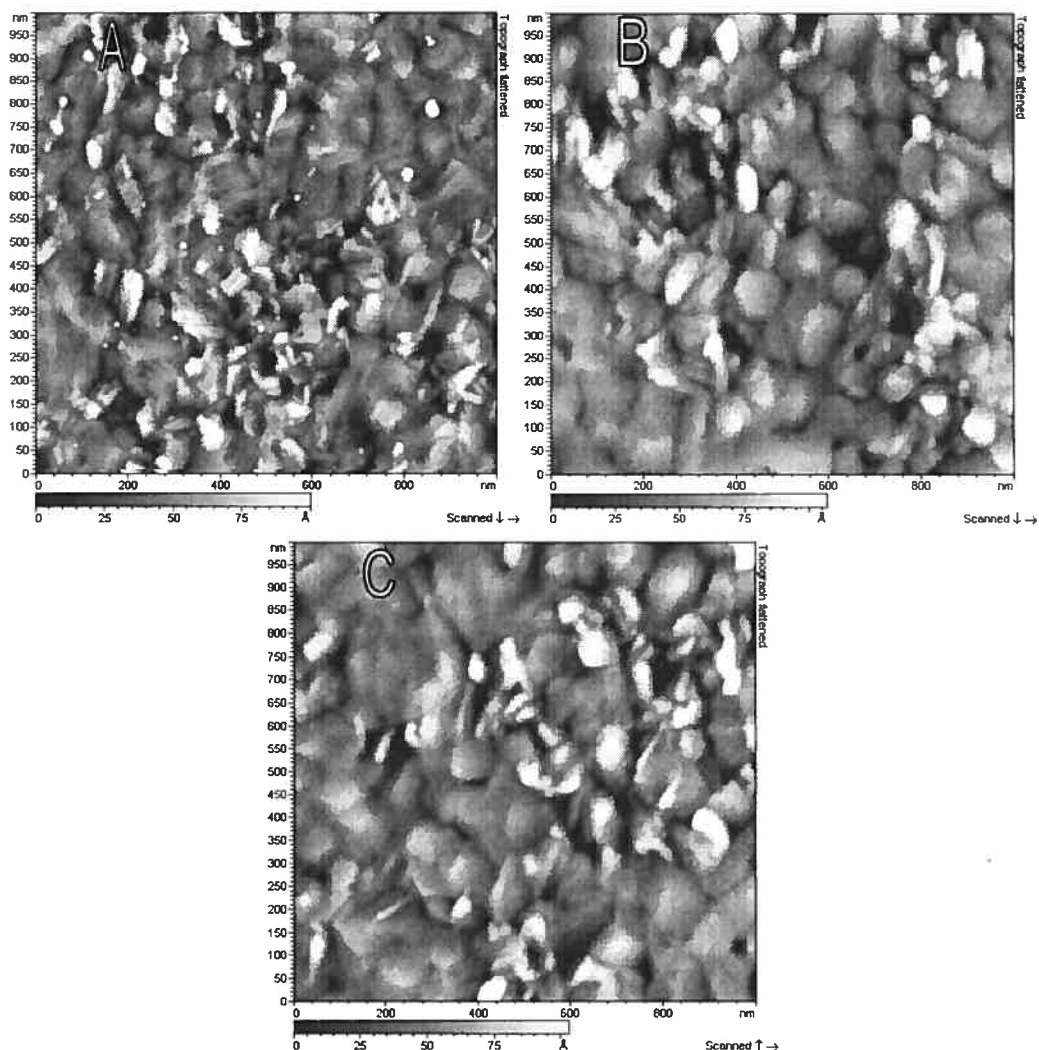




**Figure 3.13** Épaisseur mesurée par ellipsométrie pour différentes monocouches obtenues par déposition passive à partir des solutions utilisées pour la déposition électrochimique. La ligne en pointillée indique l'épaisseur correspondant à une monocouche de composition 1:1 (mol/mol)  $C_{12}SH/C_{22}SH$ .

### 3.3.2 Morphologie des monocouches

Les monocouches obtenues par déposition électrochimique ne présentent pas de différences observables en AFM (figure 3.14) par rapport aux monocouches préparées par déposition passive, c'est-à-dire, la structure ressemble beaucoup à celle obtenue pour une surface d'or nu.

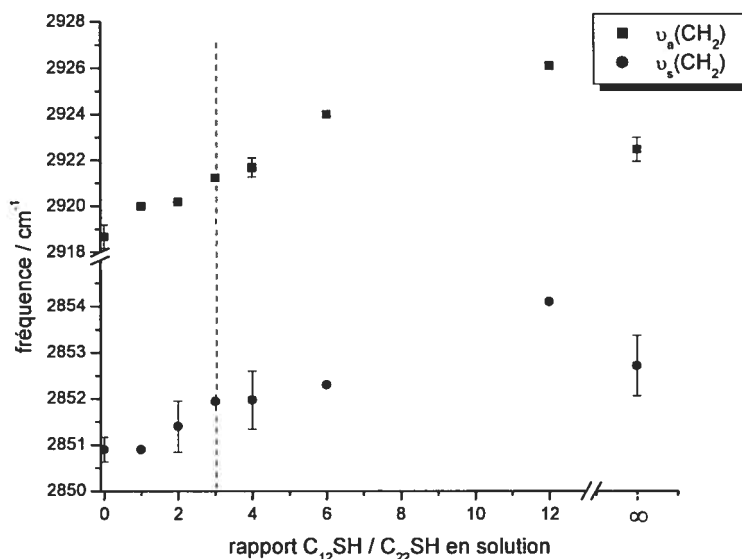


**Figure 3.14** Images AFM ( $1\ \mu\text{m} \times 1\ \mu\text{m}$ ) dans l'air de monocouches adsorbées électrochimiquement sur de l'or à partir de solutions d'alcanethiols composées de : (A)  $\text{C}_{12}\text{SH}$ ; (B)  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} = 3$ ; (C)  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH} = 1$ .

### 3.3.3 Caractérisation des monocouches par PM-IRRAS

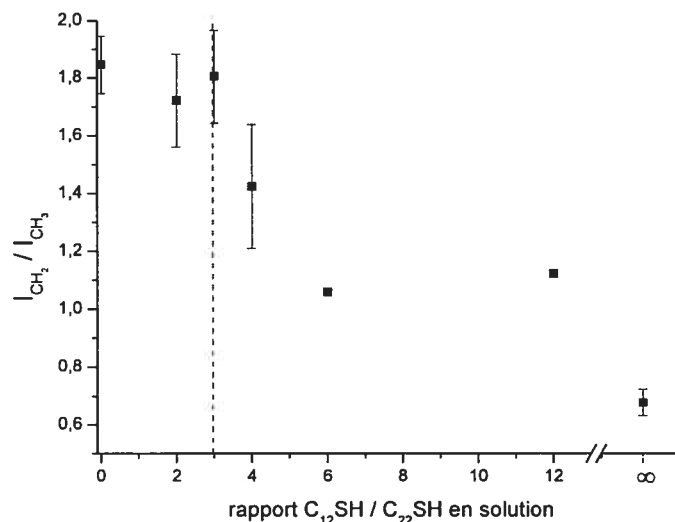
Les résultats obtenus par PM-IRRAS sont présentés à la figure 3.15. Le maximum de désordre présent dans la monocouche apparaît à un rapport de  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution qui est plus grand que celui observé pour les monocouches préparées par déposition passive dans l'isooctane. Une augmentation de la fréquence des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et

$\nu_a(\text{CH}_2)$  débute à un ratio  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution égale à 3. Cela est en accord avec les résultats obtenus en ellipsométrie. Le maximum de désordre semble se trouver toutefois beaucoup plus loin soit, entre 6 et 12.



**Figure 3.15** Variation de la fréquence des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_2)$  pour les monocouches obtenues par dépôt électrochimique. La ligne en pointillée indique le rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution correspondant à un rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en surface de 1 (résultat obtenu par ellipsométrie).

Le rapport des intensités des bandes  $\nu_s(\text{CH}_2)$  et  $\nu_a(\text{CH}_3)$  est présenté à la figure 3.16. Le rapport  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  en solution suggéré par les mesures en PM-IRRAS pour l'obtention d'un ratio de surface de 1 se situe entre 3 et 5 (figure 3.16) soit, un rapport légèrement supérieur au rapport obtenu par ellipsométrie.



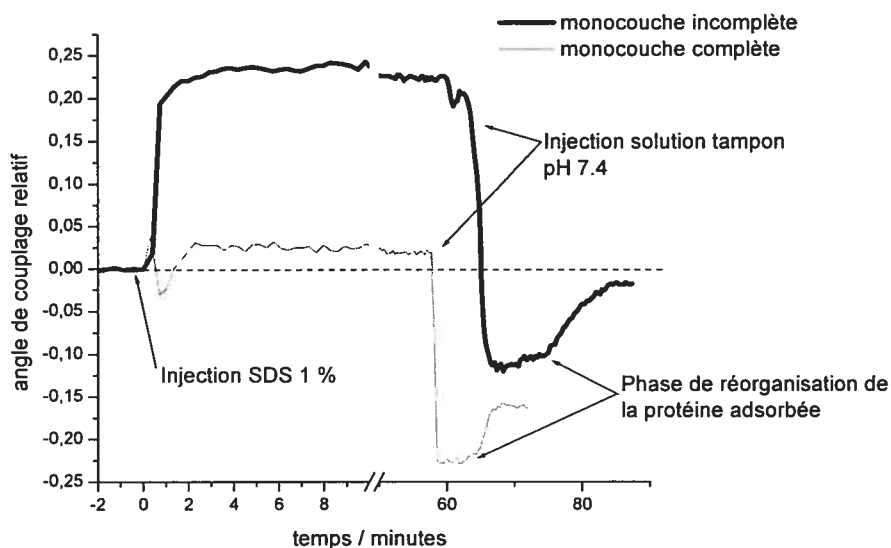
**Figure 3.16** Variation mesurée par PM-IRRAS de la composition de thiols dans les monocouches mixtes obtenues par dépôt électrochimique. La ligne en pointillée indique le rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution correspondant à un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en surface de 1 (résultat obtenu par ellipsométrie).

### 3.4 L'interaction de HSA avec des monocouches mixtes

#### 3.4.1 Adsorption de HSA sur des monocouches incomplètes

Plusieurs groupes de recherche ont démontré que la ténacité d'adsorption de HSA envers des monocouches composées de chaînes alcanes augmentait lorsque ces dernières devenaient plus désordonnées.<sup>16-19</sup> Une surface désordonnée a été obtenue en utilisant des monocouches incomplètes (surface d'or partiellement recouverte d'alcanethiol). Les résultats obtenus en SPR montre en effet qu'une monocouche incomplète augmente la ténacité d'adsorption de HSA pour une surface. En effet, la figure 3.17 montre une cinétique de désorption sur une monocouche complète (temps d'incubation 4 h) et incomplète (temps d'incubation 30 secondes) de  $C_{22}SH$ . Pour les deux types de monocouches, l'angle de couplage relatif augmente avec l'injection de SDS (solution avec un indice de réfraction plus élevé que la solution

tampon phosphate). Dans le cas de la monocouche complète, la désorption de HSA qui s'effectue dans les premières minutes qui suivent l'injection de la solution de SDS 1% contre-balance l'augmentation de l'angle de couplage relatif causé par l'injection de la solution de SDS. Ainsi, après une heure de désorption, il ne reste environ que 30% de la protéine initiale (angle de couplage relatif négatif). Dans le cas de la monocouche incomplète, on observe que très peu de désorption même après 1 h d'incubation (angle de couplage relatif presque nul) dans la solution de SDS 1%. Une hypothèse suggérée est que l'augmentation de la ténacité d'adsorption de la HSA observée pour les monocouches incomplètes ne serait pas causée par l'augmentation de l'hydrophobicité de la surface, mais plutôt causée par les liaisons covalentes entre les atomes de soufre de la protéine et la surface d'or (surface qui n'est pas entièrement recouverte après seulement 30 secondes d'incubation). À noter que l'augmentation de l'angle de couplage relatif à la fin de la cinétique est provoquée par la stabilisation de la protéine suite à l'arrêt du débit contrôlé de tampon.

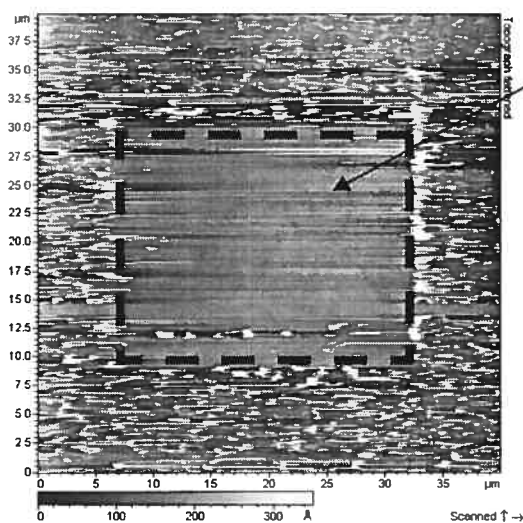


**Figure 3.17** Cinétique de désorption de HSA dans du SDS 1% pour des monocouches complètes et incomplètes de C<sub>22</sub>SH mesurée par SPR.

### 3.4.2 Ténacité d'adsorption de la HSA sur des monocouches mixtes obtenues par la méthode d'adsorption passive

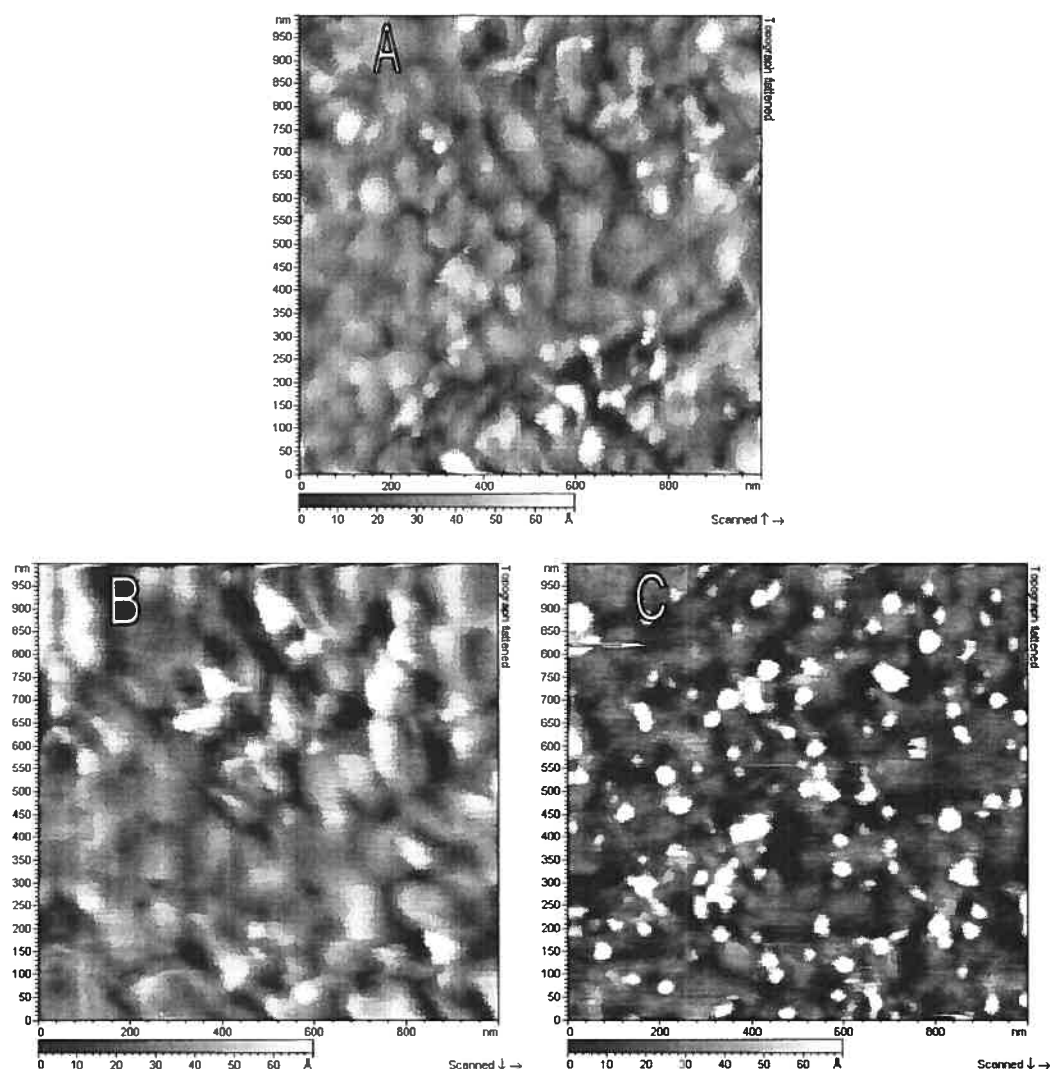
#### 3.4.2.1 Imagerie AFM de HSA adsorbée

L'adsorption de la HSA sur les différentes monocouches a été analysée par AFM en mode «Mac». Le mode contact s'est avéré inefficace puisque la pointe, qui est alors en contact constant avec la surface, déplace la HSA adsorbée. La pointe se contamine rapidement et la surface observée ne correspond alors plus à la réalité. Ce phénomène est démontré à la figure 3.18.



**Figure 3.18** Image AFM ( $40\ \mu\text{m} \times 40\ \mu\text{m}$ ) obtenue en mode contact dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche mixte de thiols.

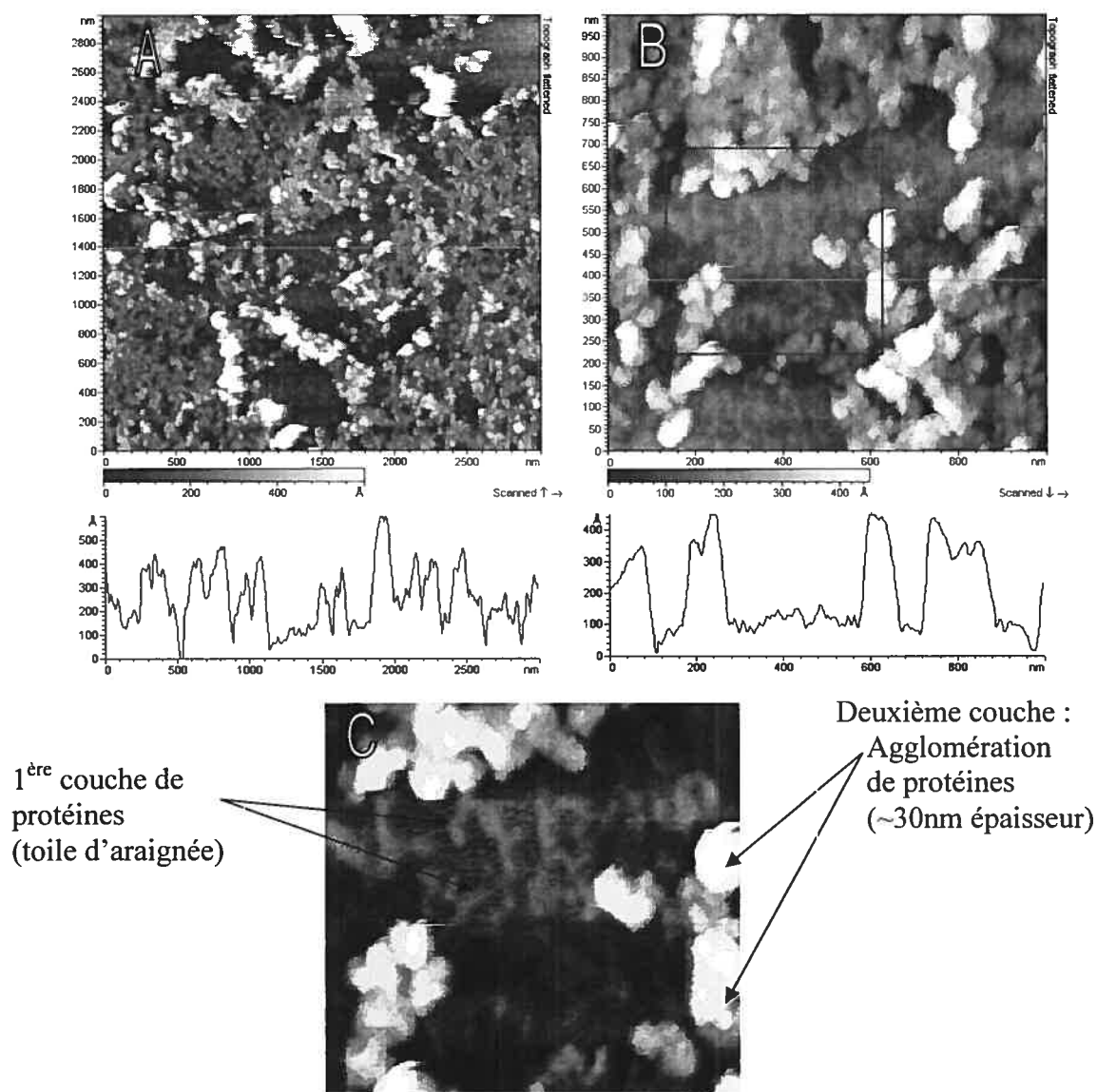
Afin d'observer l'adsorption de protéine dans un milieu semblable aux conditions naturelles du corps humain, des analyses AFM en milieu aqueux ont d'abord été réalisées sans succès, comme le démontre la figure 3.19. Cette voie n'a pas été investiguée plus à fond étant donnée la rapidité d'imagerie et la qualité des images obtenues dans l'air.



**Figure 3.19** Images AFM (1  $\mu\text{m}$  x 1  $\mu\text{m}$ ) obtenues dans l'eau d'une séquence adsorption-désorption de HSA sur une monocouche de  $\text{C}_{12}\text{SH}$ . (A) après une heure d'incubation avec une solution aqueuse de HSA 0.1 mg/mL; (B) après élution d'une heure avec une solution aqueuse de SDS 1%; (C) image dans l'air après avoir rincé avec de l'eau.

Les analyses dans l'air ne permettent pas de conclure sur la morphologie qu'aurait la HSA sur une monocouche en milieu aqueux, mais permettent toutefois de conclure sur la ténacité d'adsorption de HSA envers différentes monocouches en milieu aqueux. Les premières analyses dans l'air semblaient démontrées que la HSA s'adsorbait en

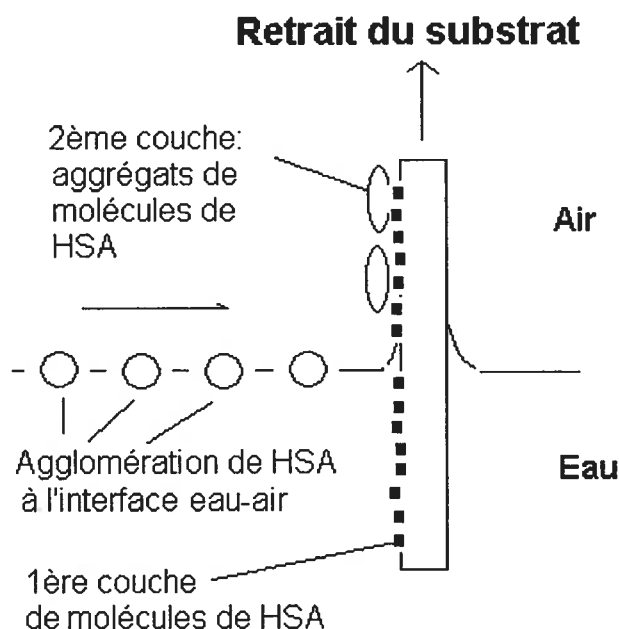
deux couches, soit une première ayant une structure en forme de toile d'araignée, et une deuxième couche étant très désordonnée et plus volumineuse. Ces deux couches sont clairement visibles à la figure 3.20.



**Figure 3.20** Images AFM obtenues dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche préparée par déposition passive à partir d'une solution mixte d'alcanethiols de rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH = 4$  dans l'isooctane. (A) 3 μm x 3 μm; (B) 1 μm x 1 μm. (C) Aggrandissement (2X) de la zone contenu dans le cadre en (B). Le graphique sous les images (A) et (B) représente la topographie qui correspond à la ligne horizontale de l'image.

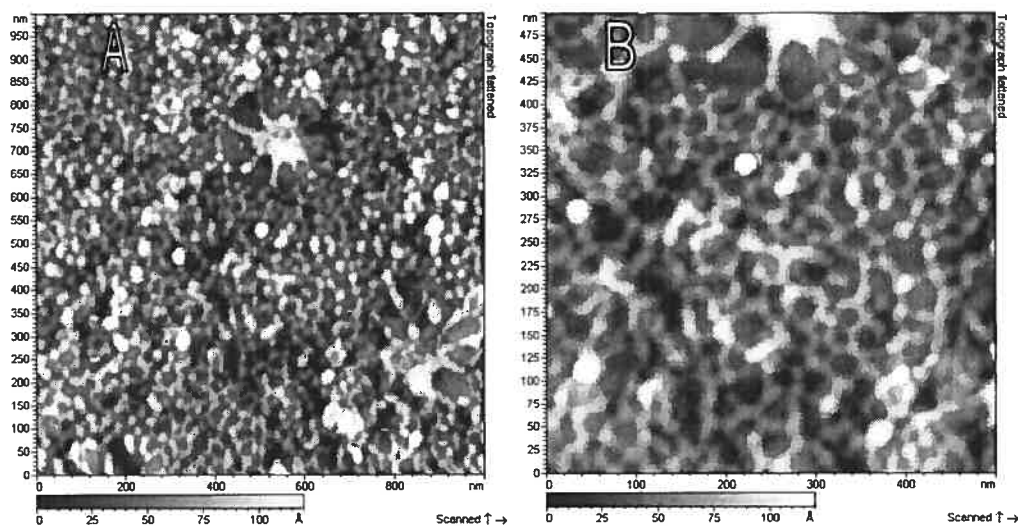


Toutefois, cette deuxième couche n'est que le résultat de la méthode de rinçage et de retrait des substrats du milieu aqueux. En effet, il est connu que la HSA a tendance à s'accumuler à l'interface eau-air. Ainsi, lors du retrait des substrats, une deuxième couche de HSA s'adsorbe sur la surface. Un schéma est présenté à la figure 3.21.

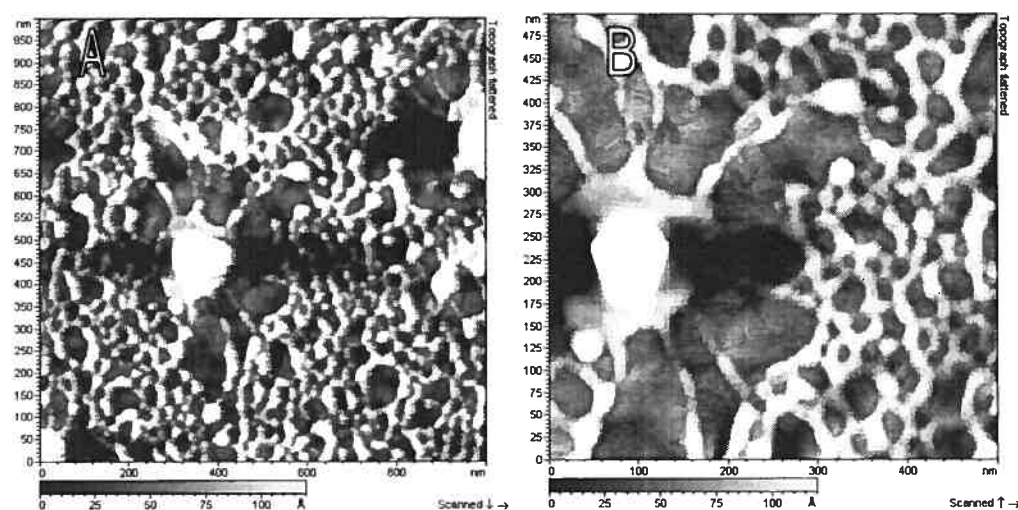


**Figure 3.21** Schéma de l'adsorption de la deuxième couche de HSA lors du retrait du substrat d'une solution aqueuse à l'air.

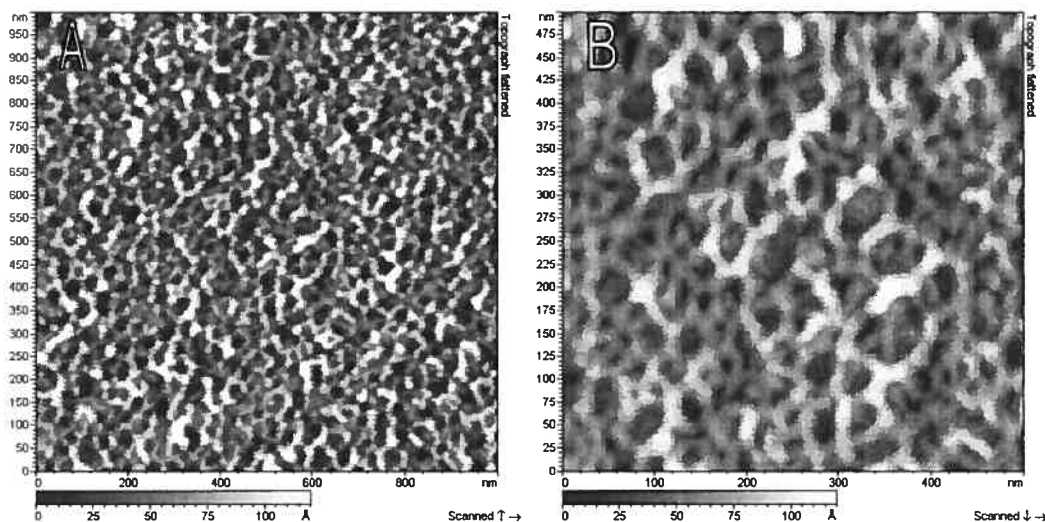
Les images des monocouches recouvertes de HSA obtenues après un rinçage adéquat sont présentées aux figures 3.22 à 3.24. La structure en forme d'étoile est observable pour toutes les monocouches mixtes. La HSA s'adsorbe selon une structure plus ou moins ouverte en forme de « toile d'araignée » sur les différentes monocouches. De plus, plusieurs régions où la HSA s'est accumulée en grande quantité sont présentes sur toutes les surfaces en quantités variables. Ces régions de forte concentration de HSA sont toujours entourées d'une zone où la monocouche est presque nue. Il est probable que ces régions soient le résultat du passage de la couche de HSA adsorbée de la solution aqueuse à l'air.



**Figure 3.22** Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de  $C_{12}SH$ . (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).

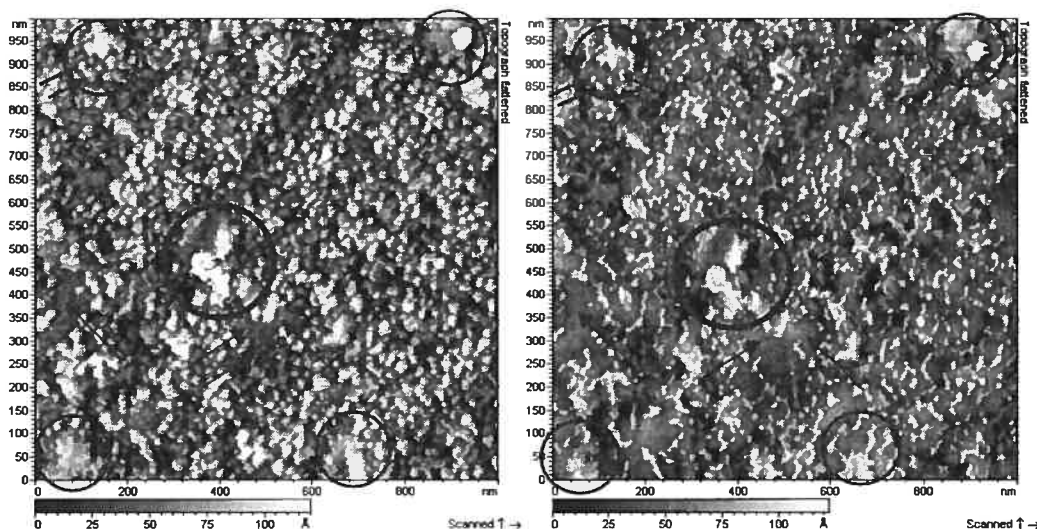


**Figure 3.23** Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche préparée à partir d'une solution de rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH = 3$ . (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



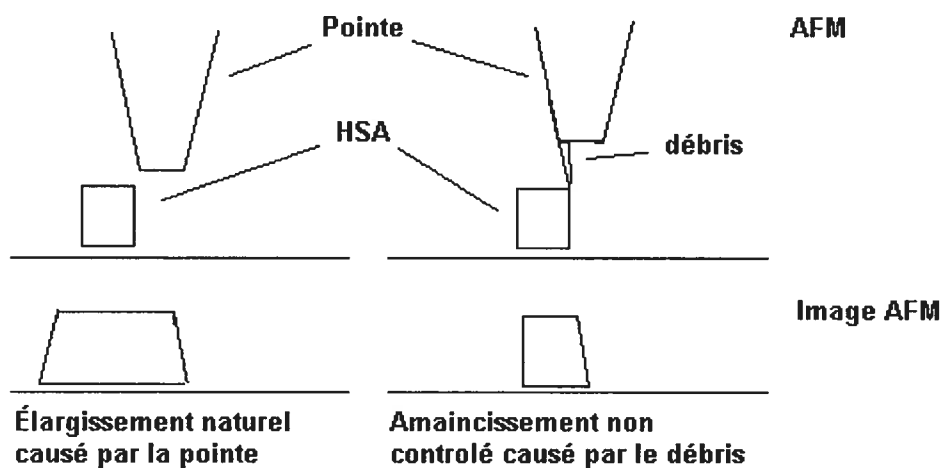
**Figure 3.24** Images AFM dans l'air de la HSA adsorbée sur une monocouche de  $C_{22}SH$ . (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).

L'imagerie AFM a été plus difficile à effectuer après la désorption par SDS de HSA. En effet, plusieurs artefacts peuvent intervenir et influencer l'évaluation de la quantité de protéine présente à la surface après élution par du SDS. Un des ces artefacts est présenté à la figure 3.25.



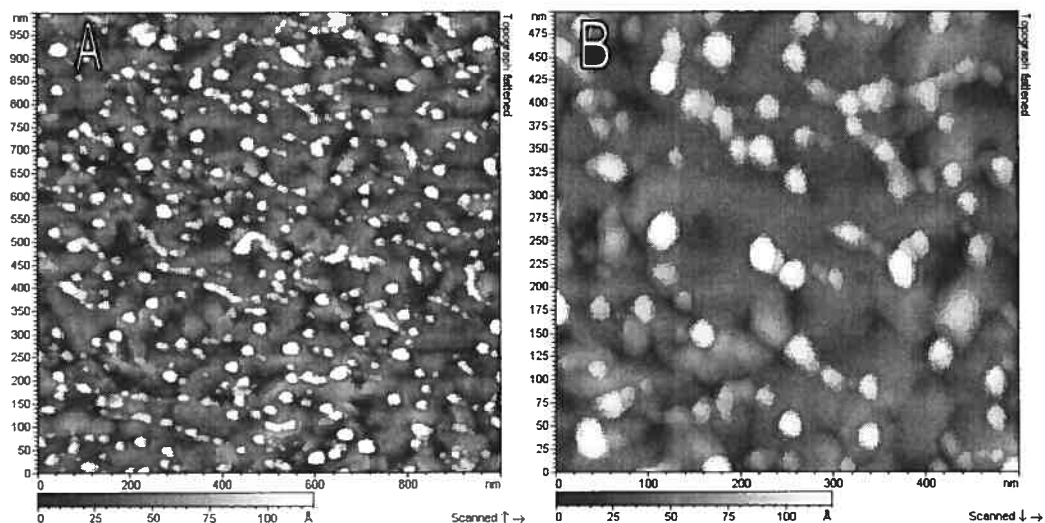
**Figure 3.25** Images AFM ( $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ) dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche mixte de thiols après élution par SDS. Ces deux images sont obtenues après l'intervalle d'un seul balayage. Les cercles et flèches sont des points de similitudes entre les deux images.

Ainsi, pour la même monocouche, une alternance entre deux images est possible. Même si la structure reste la même, il devient difficile de définir la quantité de HSA présente sur la surface. Cet artéfact s'explique par la contamination de la pointe avec de la protéine au cours de la prise d'images qui dure souvent plusieurs heures. La figure 3.26 présente le phénomène d'élargissement ou d'amincissement des structures observées en AFM.

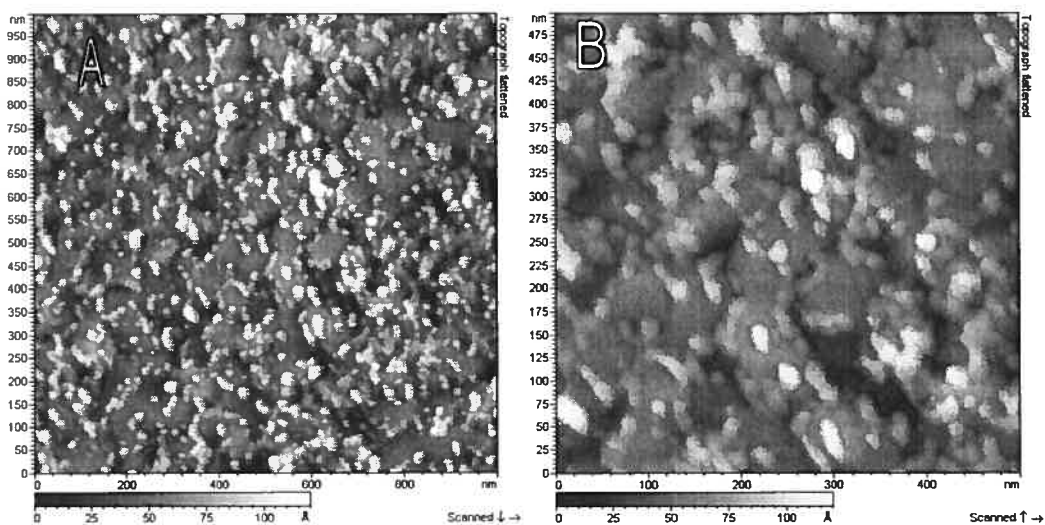


**Figure 3.26** Effet de la nature de la pointe et de la contamination sur l'image.

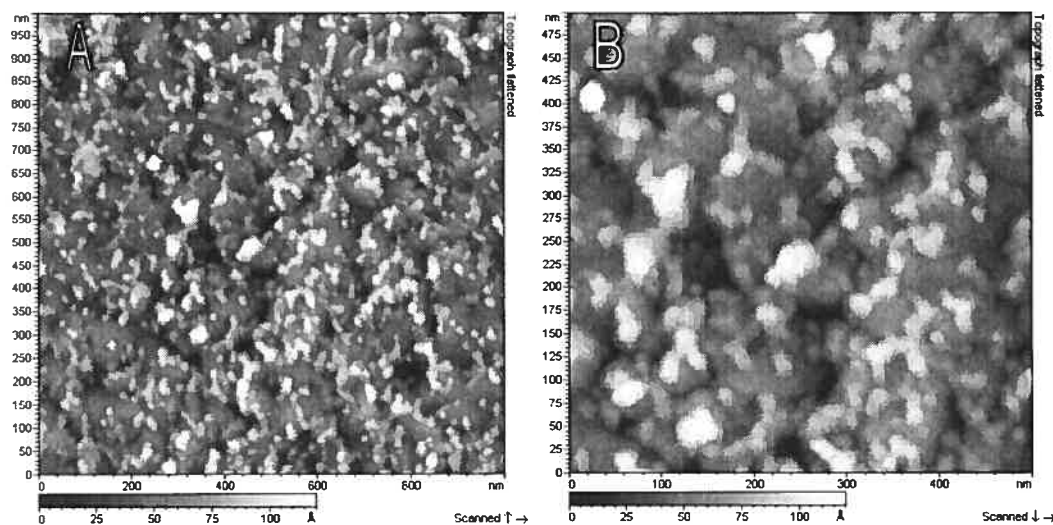
Ce type d'artéfact est évité en nettoyant la pointe fréquemment. Enfin, les images obtenues après désorption de HSA par traitement avec du SDS 1% démontrent que la ténacité d'adsorption de la HSA augmente avec la quantité de  $C_{12}SH$  dans la monocouche (figure 3.27 à 3.30). La structure en toile d'araignée est complètement détruite pour la monocouche de  $C_{22}SH$  (figure 3.27) et persiste quelque peu pour les monocouches ayant une composition plus élevée en  $C_{12}SH$  à la surface.



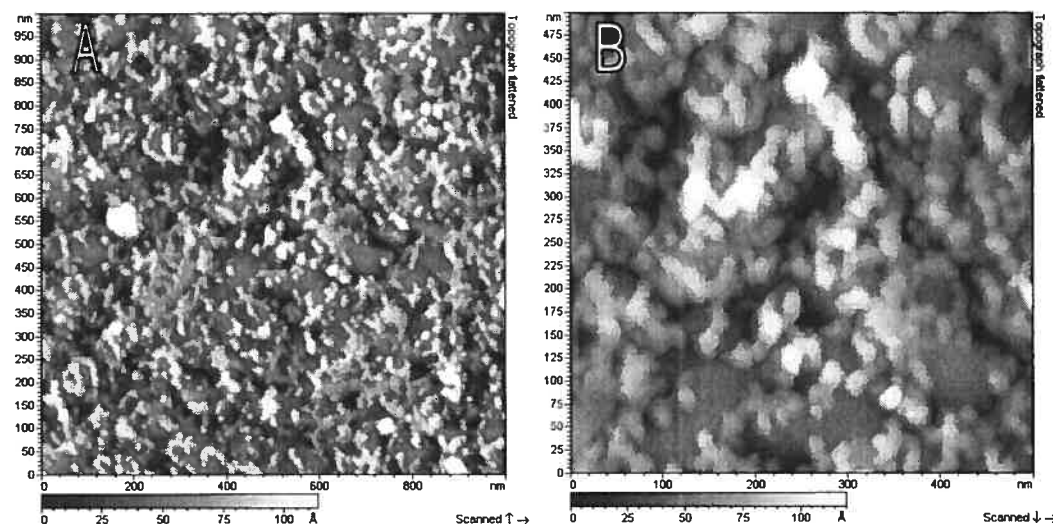
**Figure 3.27** Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche de  $C_{22}SH$  après traitement avec une solution de SDS 1%. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



**Figure 3.28** Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 2 après traitement avec une solution de SDS 1%. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



**Figure 3.29** Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 3 après traitement avec une solution de SDS 1%. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).

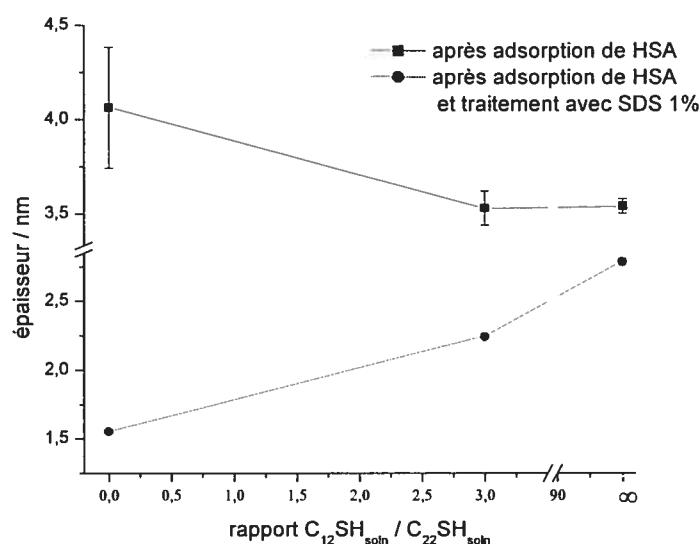


**Figure 3.30** Images AFM dans l'air de HSA restant adsorbée sur une monocouche de  $C_{12}SH$  après traitement avec une solution de SDS 1%. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).

#### 3.4.2.2 Mesures effectuées en SPR et ellipsométrie

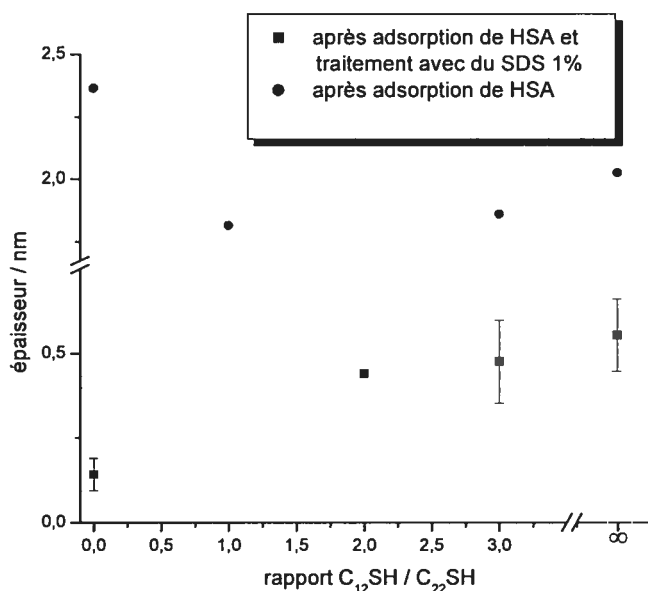
Les résultats des mesures effectuées en SPR pour l'adsorption de HSA sont présentés à la figure 3.31. Ces données indiquent que la ténacité d'adsorption de HSA augmente avec l'augmentation du rapport

$C_{12}SH/C_{22}SH$  à la surface. Cette conclusion reflète les résultats de la littérature pour les surfaces d'alcanesilanes, soit l'augmentation de la ténacité d'adsorption de HSA avec l'augmentation du désordre dans une monocouche.<sup>18</sup> Les résultats obtenus par SPR révèlent également que l'épaisseur de la couche de HSA adsorbée sur une monocouche diminue avec l'augmentation de la quantité de  $C_{12}SH$  sur la surface. Ce dernier résultat pourrait s'expliquer par la diminution de la taille d'une protéine fermement adsorbée sur une monocouche contenant un rapport élevé de  $C_{12}SH$  versus la taille d'une protéine faiblement adsorbée sur une monocouche contenant plus de  $C_{22}SH$ . Dans le cas où l'hypothèse précédente s'avérerait vraie, on pourrait considérer que l'augmentation de la ténacité d'adsorption de HSA avec la teneur en  $C_{12}SH$  est plus importante que celle démontrée uniquement par la courbe de désorption.



**Figure 3.31** Résultats des cinétiques d'adsorption et de désorption de HSA sur les monocouches obtenues par déposition passive de thiols. Chaque donnée pour la courbe d'adsorption est la moyenne d'au moins 5 surfaces différentes. Les données pour la courbe de désorption sont les résultats d'une mesure seulement.

Les épaisseurs mesurées par ellipsométrie ( $n_{\text{HSA}} = 1.4$ ) suite à l'adsorption et la désorption de HSA sont présentées à la figure 3.32. Ces résultats confirment ceux obtenus en SPR, soit l'augmentation de la ténacité d'adsorption de HSA et la diminution de l'épaisseur de la couche de HSA adsorbée avec l'augmentation du ratio  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  dans la monocouche. Les épaisseurs obtenues en ellipsométrie sont inférieures à celles obtenues en SPR ( $\sim 4\text{-}3\text{ nm}$ , voir figure 3.31) puisque les premières sont obtenues dans l'air et les secondes, dans une solution aqueuse. En solution aqueuse à pH 7.4, la structure globulaire de la HSA est maintenue. Dans l'air, cette structure s'affaisse et l'épaisseur observée diminue. Une augmentation significative de la ténacité de la HSA sur les monocouches dont le désordre a été induit par l'incorporation de  $\text{C}_{22}\text{SH}$  n'a pas été observé. Des points avec ratio  $\text{C}_{12}\text{SH}/\text{C}_{22}\text{SH}$  entre 3 et 8 auraient été plus judicieux étant donnée que le maximum de désordre se trouve dans cette région.



**Figure 3.32** HSA sur monocouches d'alkanethiols avant et après désorption par SDS.



### 3.4.2.3 Caractérisation de HSA adsorbée par PM-IRRAS

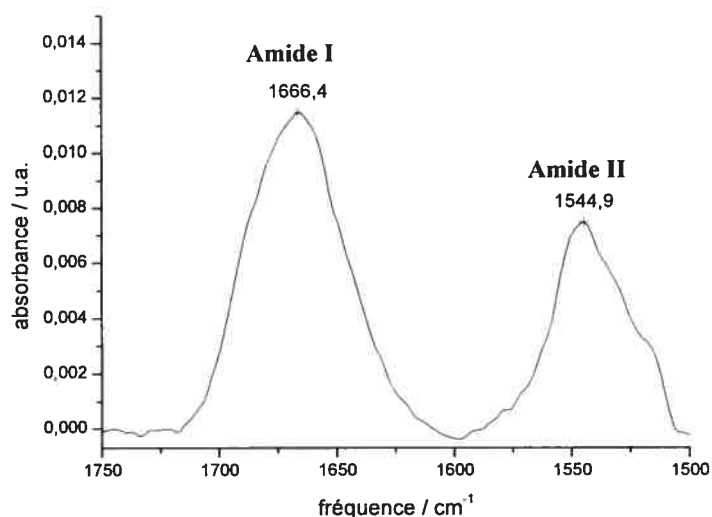
Le PM-IRRAS a été utilisé pour confirmer la présence de protéine sur les différentes monocouches après désorption de cette dernière par traitement avec une solution de SDS. La présence de protéine est détectée par les bandes amides caractéristiques. La bande Amide 1 ( $1690 \pm 45 \text{ cm}^{-1}$ ) représente la vibration C=O, la bande Amide 2 ( $1540 \pm 60 \text{ cm}^{-1}$ ) représente la déformation dans le plan de N-H couplée avec l'élongation C-N (figure 3.33). Les valeurs sont semblables pour les différentes monocouches (tableau 3.4) et changent peu après désorption (tableau 3.5).

**Tableau 3.4** Bandes amides de HSA sur la monocouche après adsorption de HSA.

Rapport $\text{C}_{12}\text{SH}_{\text{soln}}/\text{C}_{22}\text{SH}_{\text{soln}}$	Amide 1 ( $\text{cm}^{-1}$ )	Amide 2 ( $\text{cm}^{-1}$ )
0 (solution $\text{C}_{22}\text{SH}$ )	1666.4	1544.9
1	1664.4	1546.9
2	1664.5	1544.9
12	1666.4	1546.9
$\infty$ (solution $\text{C}_{12}\text{SH}$ )	1666.4	1544.9

**Tableau 3.5** Bandes amides de HSA qui reste adsorbée sur la monocouche après traitement avec du SDS 1%.

Rapport $\text{C}_{12}\text{SH}_{\text{soln}}/\text{C}_{22}\text{SH}_{\text{soln}}$	Amide 1 ( $\text{cm}^{-1}$ )	Amide 2 ( $\text{cm}^{-1}$ )
3	1666.4	1544.9
8	1664.5	1546.9
12	1664.5	1544.9
$\infty$ (solution $\text{C}_{12}\text{SH}$ )	1666.4	1544.9

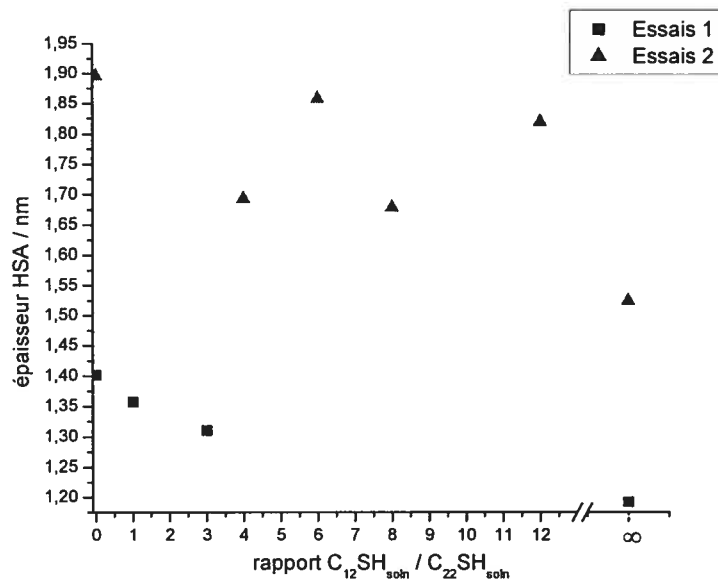


**Figure 3.33** Bandes amides de HSA adsorbée sur une monocouche de C<sub>22</sub>SH.

### 3.4.3 Ténacité d'adsorption de HSA sur des monocouches mixtes obtenues par déposition électrochimique

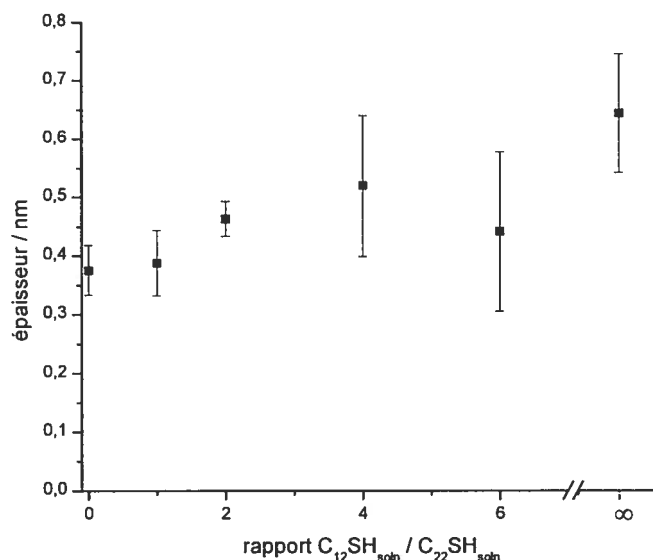
#### 3.4.3.1 Ellipsométrie

Les épaisseurs mesurées par ellipsométrie de HSA adsorbée sur les monocouches mixtes préparées par déposition électrochimique démontrent que l'épaisseur de la couche de HSA est plus grande sur les monocouches ayant un rapport C<sub>12</sub>SH/C<sub>22</sub>SH faible. Ces résultats sont similaires à ceux trouvés pour les monocouches obtenues par déposition passive dans l'isooctane (figure 3.31). Les résultats présentés à la figure 3.34 démontrent que cette différence est faible. De plus, les résultats varient beaucoup d'une série d'essais à une autre. Cela provient du fait qu'il est impossible d'obtenir la même surface à chaque expérience et que les épaisseurs sont obtenues par modélisation successive de trois couches soit, l'or, la monocouche d'alcanethiols et la couche de HSA.



**Figure 3.34** HSA adsorbée sur des monocouches mixtes formées par électrodéposition d'alcanethiols.

La quantité de HSA qui reste adsorbée sur les monocouches après traitement avec du SDS 1% augmente avec le ratio  $C_{12}SH/C_{22}SH$ . Encore une fois, les résultats obtenus varient beaucoup d'une série d'élution à une autre, mais une tendance générale peut quand même être obtenue soit, l'augmentation de la tenacité d'adsorption avec le ratio  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de la monocouche. Une augmentation significative de la ténacité de la HSA sur les monocouches dont le désordre a été induit par l'incorporation de  $C_{22}SH$  n'a pas été observé. Des points avec ratio  $C_{12}SH/C_{22}SH$  entre 6 et 12 auraient été plus judicieux étant donnée que le maximum de désordre se trouve dans cette région.



**Figure 3.35** Épaisseur de HSA après élution par SDS. Chaque donnée est la moyenne d'un minimum de 4 mesures ellipsométriques.

En comparant avec les valeurs obtenues pour les monocouches obtenues par déposition passive dans l'isooctane, on observe que la différence de ténacité d'adsorption augmente avec la diminution du ratio  $C_{12}SH/C_{22}SH$  dans la monocouche (tableau 3.6). Pour les monocouches de  $C_{22}SH$ , le degré d'ordre, la structure observée par AFM et les épaisseurs mesurées par ellipsométrie sont similaires entre les deux méthodes de dépositions. On ne peut donc expliquer cet écart de ténacité d'adsorption obtenues pour les différentes méthodes de déposition. Une étude plus approfondie par microscopie à effet tunnel (STM) de la structure des monocouches obtenues par les deux méthodes de déposition devra être entreprise pour expliquer ces résultats.

**Tableau 3.6** Comparaison de la ténacité d'adsorption de la HSA sur monocouches obtenues par déposition passive et électrochimiques.

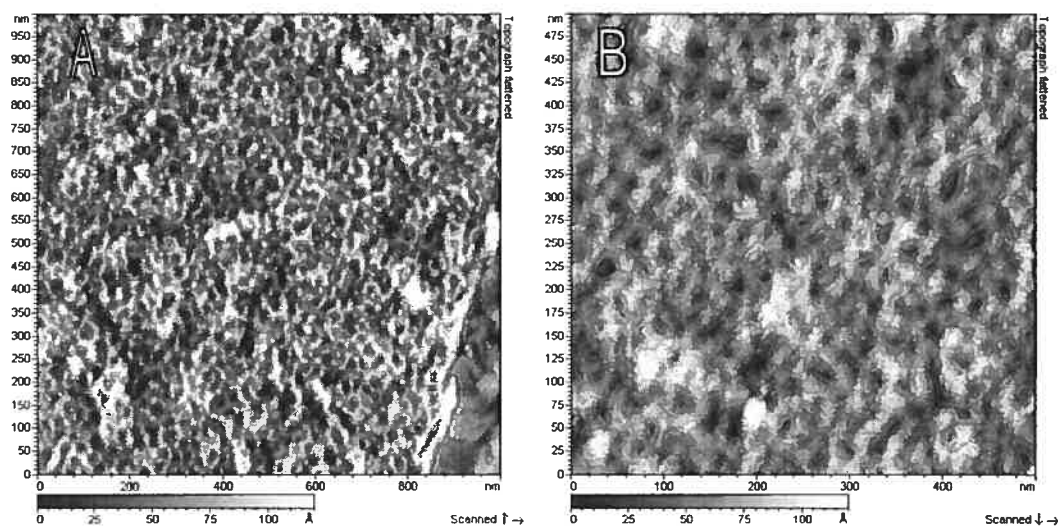
Rapport $C_{12}SH_{soln}/C_{22}SH_{soln}$	Épaisseur 1* (nm)	Épaisseur 2* (nm)	Différence (1-2) (nm)
0 (solution $C_{22}SH$ )	0,38	0,14	0.24
1	0,39	--	--
2	0,46	0,44	0.02
3	--	0,47	--
4	0,52	--	--
$\infty$ (solution $C_{12}SH$ )	0,64	0,56	0.08

\* Épaisseur de HSA adsorbée sur SAM obtenue par déposition électrochimique après désorption par SDS.

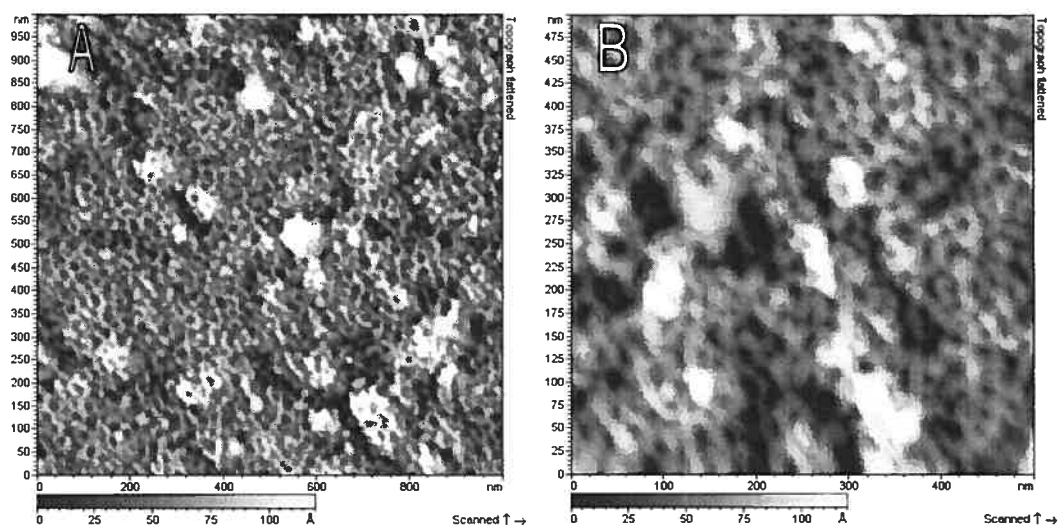
\*\* Épaisseur de HSA adsorbée sur SAM obtenue par déposition passive dans l'isooctane après désorption par SDS.

### 3.4.3.2 Imagerie AFM

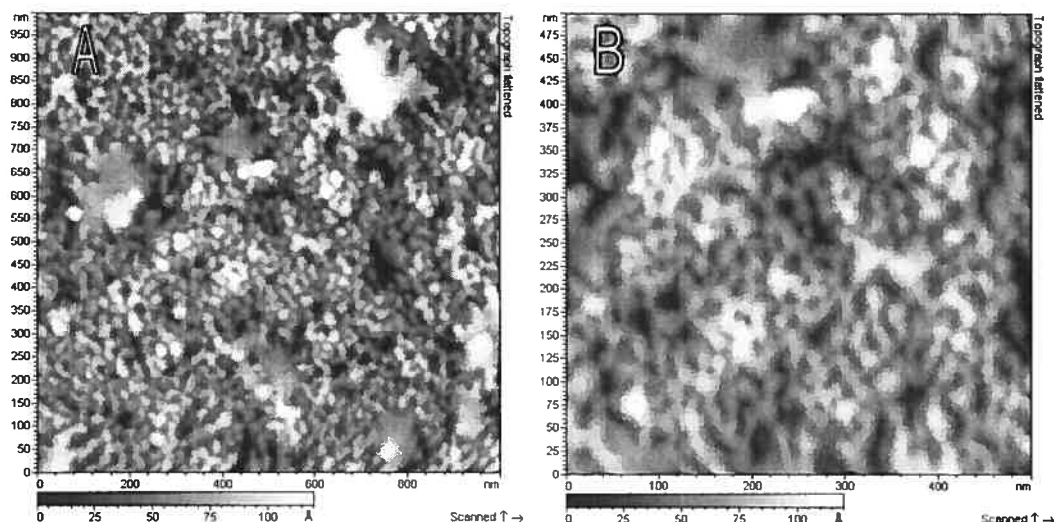
Les images AFM prises dans l'air de HSA adsorbée sur des monocouches préparées par déposition électrochimique sont semblables à celles obtenues pour les monocouches formées par déposition passive dans l'isooctane. Ces images sont présentées aux figures 3.36 à 3.39. La structure en forme de toile d'araignée est toujours présente.



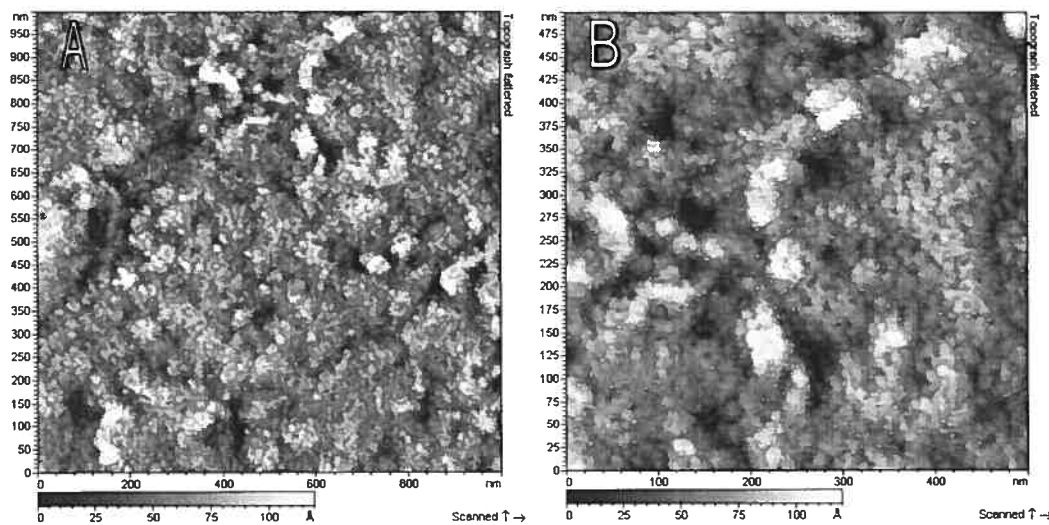
**Figure 3.36** Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de  $C_{22}SH$ . (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



**Figure 3.37** Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 1. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



**Figure 3.38** Images AFM dans l'air de la HSA adsorbée sur une monocouche formée à partir d'une solution ayant un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de 3. (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de la surface présentée en (A).



**Figure 3.39** Images AFM dans l'air de HSA adsorbée sur une monocouche de  $C_{12}SH$ . (A)  $1\ \mu m \times 1\ \mu m$ ; (B)  $0.5\ \mu m \times 0.5\ \mu m$  de (A).

### 3.5 Références

- (1) Bain, C. D.; Troughton, E. B.; Tao, Y.-T.; Evall, J.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *111*, 321.
- (2) Porter, M. D.; Bright, T. B.; Allara, D. L.; Chidsey, C. E. D., *J. Am. Chem. Soc.* **1987**, *109*, 3559.
- (3) Strong, L.; Whitesides, G. M., *Langmuir* **1988**, *4*, 546.
- (4) Abrahamsson, S.; Larsson, G.; Von Sydow, E., *Acta Crystallogr.* **1960**, *13*, 770.
- (5) Porter, M. D.; Bright, T. B.; Allara, D.; Chidsey, C. E. D., *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, *109*, 3559.
- (6) Pauling, L. *The Nature of the Chemical Bond*; Cornell University Press: Ithaca, 1960.
- (7) Davies, J.; Faulkner, I. *Surface Plasmon Resonance- Theory and Experimental Consideration*; Butterworth-Heinemann, 1996.
- (8) Grassi, J. H.; Georgiadis, R. M., *Anal. Chem.* **1999**, *71*, 4392.
- (9) Peterlinz, K. A.; Georgiadis, R., *Langmuir* **1996**, *12*, 4731.
- (10) Peterlinz, K. A.; Georgiadis, R., *Optics Comm.* **1996**, *130*, 260.
- (11) Bain, C. D.; Whitesides, G. M., *J. Am. Chem. Soc.* **1988**, *111*, 7164.
- (12) Losic, D.; Shapter, J. G.; Gooding, J. J., *Langmuir* **2001**, *17*, 3307.
- (13) Golan, Y.; Margulis, L.; Rubinstein, I., *Surf. Sci.* **1992**, *264*, 312.
- (14) Lingyan, L.; Shengfu, C.; Shaoyi, J., *Langmuir* **2002**, *19*, 2974.
- (15) Hill, I. R.; Levin, I. W. J., *J. Chem. Phys.* **1979**, *70*, 842.



- (16) Choi, E. J.; Foster, M. D., *Langmuir* **2002**, *18*, 557.
- (17) Green, R. J.; Davies, M. C.; Roberts, C. J.; Tendler, S. J. B., *Biomaterials* **1999**, *20*, 385.
- (18) Petrash, S.; Cregger, T.; Zhao, B.; Pokidysheva, E., *Langmuir* **2001**, *17*, 7645.
- (19) Petrash, S.; Sheller, N. B.; Dando, W.; Foster, M. D., *Langmuir* **1997**, *13*, 1881.

#### 4. Conclusions

Le rapport de  $C_{12}SH/C_{22}SH$  dans des monocouches d'alcanethiols sur l'or préparées par déposition passive dans l'isooctane ou par déposition électrochimique dans une solution d'éthanol-THF est contrôlé par la thermodynamique, soit par la solubilité des différents alcanethiols utilisés dans les différents solvants. Ce contrôle thermodynamique a été vérifié à travers des mesures de l'épaisseur de monocouches par SPR et ellipsométrie. Les résultats démontrent que pour obtenir un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de surface égale à 1, un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  en solution d'environ 2 est nécessaire pour une déposition passive et un rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  d'environ 3 est nécessaire pour une déposition électrochimique.

Le PM-IRRAS a permis de déterminer le degré d'ordre des chaînes alcanes dans les monocouches mixtes. Le degré d'ordre dans les monocouches pures obtenues par déposition passive et électrochimique augmente avec la longueur de chaîne des alcanethiols et il est semblable pour la déposition passive et électrochimique. De plus, il a été observé que le degré d'ordre diminue pour les monocouches mixtes. Pour les deux méthodes de déposition, cette augmentation débute de façon significative pour les monocouches mixtes dont le rapport  $C_{12}SH/C_{22}SH$  de surface est environ égale à 1. Les analyses par AFM n'ont pas démontrées la formation de domaines ou de morphologie particulière pour les surfaces d'or modifiées avec des alcanethiols à partir des deux méthodes de déposition.

L'adsorption de HSA augmente avec la longueur de chaîne de l'alcanethiol pour les deux méthodes utilisées. La différence est très faible mais observable en SPR et ellipsométrie. Il a été observé par imagerie AFM dans l'air que la couche de HSA adsorbée possède une structure en forme de toile d'araignée. La présence des bandes amides

en PM-IRRAS permet également de confirmer la présence de HSA sur la surface des monocouches.

Les épaisseurs de HSA mesurées par ellipsométrie varient beaucoup d'une série d'éluion à une autre. Toutefois, une tendance générale est observable. La ténacité d'adsorption de HSA augmente avec l'augmentation du ratio  $C_{12}SH/C_{22}SH$  pour les deux méthodes de déposition. La présence de bandes amides en PM-IRRAS permet de confirmer la présence de HSA après éluion par SDS. La ténacité d'adsorption observée sur les monocouches obtenues par déposition électrochimique pour les faibles ratios  $C_{12}SH/C_{22}SH$  est supérieur aux monocouches correspondantes obtenues par déposition passive. Les résultats expérimentaux obtenues ne permettent pas d'expliquer ces résultats. Une étude plus approfondie de la structure des monocouches par les deux méthodes de déposition devra être entreprise pour expliquer ces résultats.

Malgré le degré de désordre significatif induit par la présences de chaînes alcane qui s'étendent de la surfaces des monocouches mixtes étudiées, la rétention de HSA ne s'est pas avérée plus efficace que celle observée pour les monocouches pures de  $C_{12}SH$ .

